Aicha
DEKAR-MADOUI

Hacina
CHALLAM-BENZINE

Cytologie
&
Phisiologie Cellulaire

Complément des fascicules
2 & 3
Illustrations et questions

Première année des Sciences Médicales,
Biologiques et Vétérinaires

LE HYALOPLASME

INTRODUCTION

Le hyaloplasme est le milieu cellulaire dans lequel baignent tous les organites cytoplasmiques et le noyau. Chez les eucaryotes, le hyaloplasme est limité extérieurement par la membrane plasmique et séparé du noyau, par l'enveloppe nucléaire. Pour les procaryotes, le hyaloplasme correspond au milieu intracellulaire.

1. STRUCTURE ET ULTRASTRUCTURE

1.1 Structure au microscope photonique

Le hyaloplasme se présente comme un milieu homogène d'aspect astructuré. Son aspect varie suivant le type cellulaire et les conditions physiologiques de la cellule.

Après coloration, on peut observer selon le type cellulaire, des particules de glycogène comme dans les cellules hépatiques et des globules lipidiques dans les cellules adipeuses.

1.2 Ultrastructure

Après coloration, la microscopie électronique à transmission révèle des structures granulaires et des structures fibrillaires représentant les structures figurées du hyaloplasme ***(Planche I)***.

1.2.1 Les structures granulaires

Les particules de glycogène : le glycogène est un polymère de glucose constitué de résidus glycosyl reliés les uns aux autres. Il se présente sous forme de particules denses aux électrons mesurant 150 à 300 Å de diamètre ***(type α),*** généralement dispersées comme dans les cellules musculaires et les polynucléaires ou groupés en rosettes de 100-200 nm de diamètre ***(type β)*** caractérisant les hépatocytes.

Les globules ou enclaves lipidiques : ils apparaissent comme de grosses gouttelettes ou inclusions sphériques non limitées par une membrane et denses aux électrons. Ces enclaves stockent les acides gras sous forme de triglycérides.

Les globules lipidiques sont présents dans tous les types cellulaires, ils sont néanmoins plus abondants dans les adipocytes et les hépatocytes.

Les ribosomes : ils sont révélés comme de petites granulations pouvant être dispersées. Il s'agit des petites et grosses sous unités libres ou groupées en forme de chapelet correspondant alors aux ribosomes liés à l'ARN m en polyribosomes.

Les structures fibrillaires

Les structures fibrillaires sont représentées par les différentes protéines qui structurent les éléments du cytosquelette : microtubules, microfilaments fins d'actine, microfilaments épais de myosine et filaments intermédiaires. Elles interviennent aussi dans la motilité intracellulaire **(voir chapitre V)**.

2. COMPOSITION CHIMIQUE

2.1 Isolement du hyaloplasme

Par la technique d'ultracentrifugation différentielle on obtient à la quatrième centrifugation d'un homogénat cellulaire, un surnageant correspondant à la solution aqueuse du hyaloplasme, c'est-à-dire dépourvue des éléments figurés. Ceux-ci étant récupérés graduellement à la première centrifugation, avec la fraction noyaux pour les éléments du cytosquelette, à la troisième centrifugation pour les grands polysomes et à la quatrième centrifugation pour les petits polysomes et les réserves glucidiques et lipidiques.

2.2 Analyse chimique

Le hyaloplasme renferme essentiellement de l'eau (85%), des protéines structurales et fonctionnelles (enzymes de : la protéosynthèse, la glycolyse, la synthèse des acides gras….), des acides aminés, des acides nucléiques (ARNt, ARNm, ARNr), des nucléotides (ATP/ADP, GTP/GDP….), des sucres simples ou complexes (glycogène), des acides gras, des lipides, des ions (Ca^{++}, K^+, Na^+, H^+, OH^-….).

Ces éléments sont, soit synthétisés par la cellule, soit importés du milieu extracellulaire à travers la membrane plasmique par des processus perméatifs spécifiques ou par endocytose.

Les quantités de ces composants hyaloplasmiques varient au cours de la vie cellulaire et de ses états physiologiques. Ainsi, l'analyse en microscopie électronique d'hépatocytes d'un rongeur (souris), maintenu au jeûne durant trois jours, révèle que les particules de glycogène disparaissent et les globules lipidiques deviennent moins nombreux comparé à l'animal nourri normalement.

3. PROPRIETES

3.1 Viscosité

Suivant l'activité physiologique de la cellule (division cellulaire, sécrétion, mouvement...) et l'état du cytosquelette, le hyaloplasme peut avoir une consistance visqueuse qualifiée de *gel* ou fluide qualifiée de *sol*. Ces états sont essentiellement liés aux protéines du cytosquelette. Ainsi, selon que les macromolécules protéiques, notamment l'actine fibreuse, soient réticulées (état gel) ou fragmentées (état sol), la consistance du hyaloplasme varie d'un point à un autre et peut passer localement et très rapidement de l'état gel à l'état sol et vice-versa **(voir chapitre V)**.

Cette réversibilité dépendra également d'un certain nombre de facteurs: lumière, température, hormones, O_2, CO_2 et agents chimiques (anesthésiques, caféine …).

3.2 Mobilité

Le hyaloplasme est doté de courants cytoplasmiques, il coule lentement dans la cellule sans déformation de la membrane plasmique, en entraînant dans ce mouvement interne les molécules en suspension : protéines, enzymes, ions, eau…

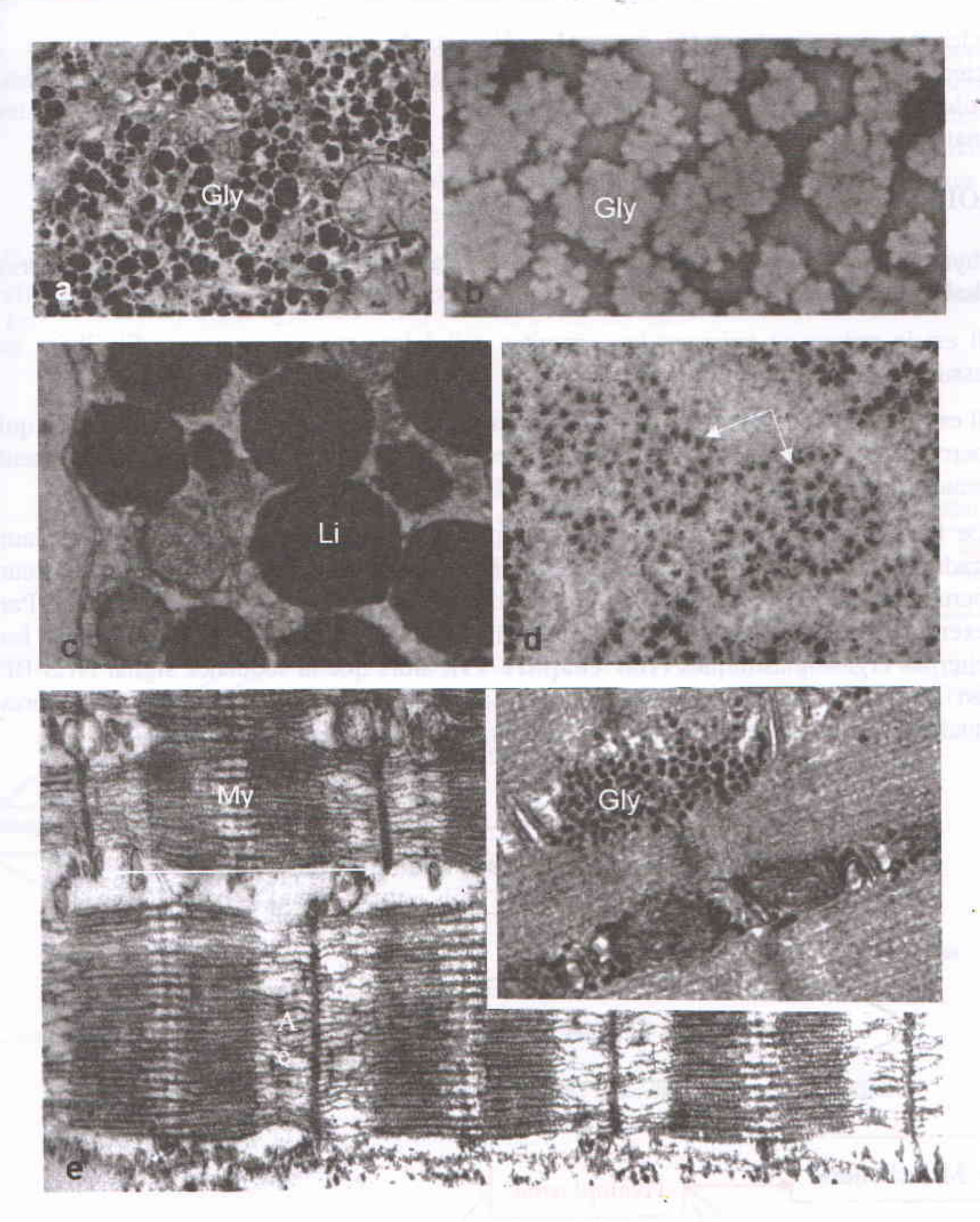


Planche I:Micrographies de MET montrant les structures granulaires et fibrillaires du hyaloplasme.

En (a), amas de particules de glycogène (*Gly*) dans une portion d'hépatocyte; rosettes de glycogène β après coloration négative(b); globules lipidiques (*Li*) denses aux électrons dans un hépatocyte; en (d) des polyribosomes en chapelets (*flèches*); hyaloplasme de cellule musculaire riche en myofibrilles organisées en une succession de sarcomères constitués de myosine (My) et d'actine (Ac). Cette cellule renferme aussi des particules de glycogène α (*encart*).

Dans les mouvements structurés, ce sont les éléments **du cytosquelette** et leurs protéines associées qui interviennent dans le déplacement des structures cellulaires (mitochondries, vésicules….) et des cellules entières comme les cellules phagocytaires ou les spermatozoïdes **(voir chapitre V)**.

4. ROLES

Le hyaloplasme assure plusieurs fonctions, certaines sont structurelles, d'autres métaboliques:

- Il est le milieu où baignent les organites cellulaires et sa composante fibrillaire en assure le support dynamique.
- Il est le siège de la transformation de l'énergie chimique en énergie mécanique, ce qui permet les différents mouvements de la cellule (contraction musculaire, mouvement amaeboïde, déplacement par mouvement flagellaire, battements ciliaires…).
- Le hyaloplasme permet l'adressage des protéines synthétisées. En effet après leur traduction, les protéines synthétisées comportent des séquences d'adressage qui leur permettent d'être orientées vers des compartiments cellulaires spécifiques. Par exemple, la séquence signal SRP facilite l'adressage vers le REG et l'entrée dans les citernes ergastoplasmiques **(voir chapitre VI)**, alors que la séquence signal NLS-BP est une séquence d'adressage vers le noyau et le nucléole à travers des pores nucléaires. Nous y reviendrons dans les chapitres suivants ***(Schéma 1)***.

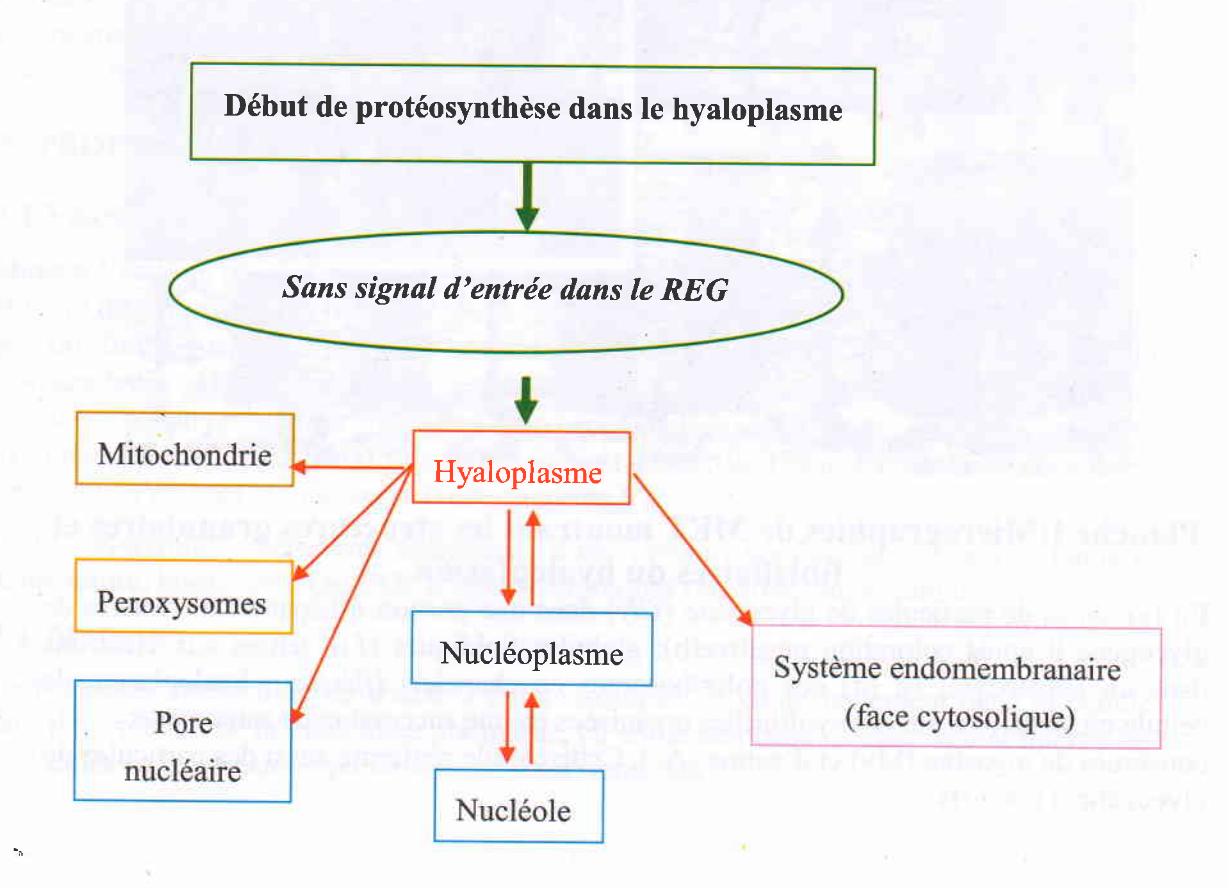


Schéma 1 : Le hyaloplasme, site d'adressage des protéines intracellulaires

- Grâce aux milliers d'enzymes qu'il contient, il est le siège de nombreuses réactions chimiques dont l'ensemble constitue le métabolisme cellulaire. Le métabolisme associe à la fois l'anabolisme et le catabolisme. L'anabolisme correspond à toutes les voies de synthèse de molécules organiques (certains acides aminés, protéines, glucides, lipides et les nucléotides). Le catabolisme correspond aux voies de dégradation de ces molécules organiques.

Ces réactions métaboliques ne sont pas tout à fait indépendantes les unes des autres, elles possèdent un carrefour commun et obligatoire : le glucose 6 phosphate ***(Planche II).***

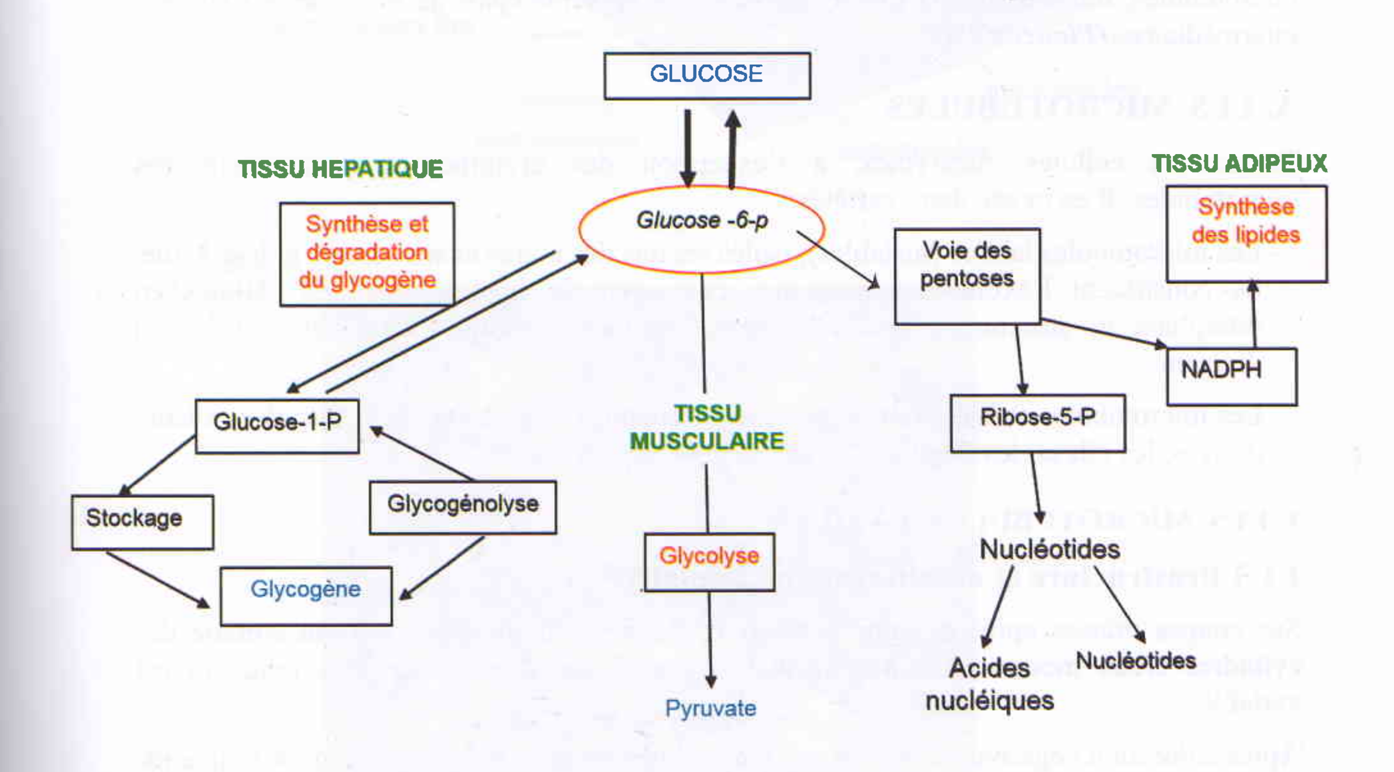


Planche II: Les voies métaboliques du Glucose dans différents types cellulaires

LE CYTOSQUELETTE

INTRODUCTION

C'est un ensemble de filaments protéiques présents dans le nucléoplasme et dans le hyaloplasme de toutes les cellules eucaryotes. Ces filaments peuvent être dispersés ou organisés en faisceaux ou en structures complexes (centrioles, cils et flagelles).

Le cytosquelette permet aux cellules eucaryotes de s'adapter à une grande variété de changements morphologiques et d'effectuer des mouvements coordonnés. Il est formé de microtubules, microfilaments fins d'actine, microfilaments épais de myosine et filaments intermédiaires ***(Planche III).***

A. LES MICROTUBULES

Toutes les cellules eucaryotes, à l'exception des érythrocytes, contiennent des microtubules. Il en existe deux variétés:

- Les microtubules labiles (instables), isolés les uns des autres et souvent de grande taille, ils constituent l'axone des neurones, parcourent le hyaloplasme des cellules en interphase et structurent le fuseau achromatique (mitotique) dans les cellules en division.
- Les microtubules stables sont organisés en structures complexes (les centrioles et leurs dérivés, les cils et les flagelles).

1. LES MICROTUBULES LABILES

1.1 Ultrastructure et architecture moléculaire

Sur coupes minces après coloration positive, les microtubules apparaissent comme des cylindres creux mesurant 25 nm de diamètre et 5 nm d'épaisseur, leur longueur est variable.

Après coloration négative, la paroi d'un microtubule apparaît formée de 13 protofilaments. Chaque protofilament est constitué de la succession de deux types de protéines globulaires: la tubuline α et la tubuline β ***(Planche IV).***

1.2 Biogenèse

Les micrographies de microscopie électronique montrent que les microtubules prennent naissance au voisinage du centrosome, plus précisément dans le matériel péricentriolaire, appelé aussi centre organisateur des microtubules (COMT ou MTOC). Il s'agit d'une matrice protéique composée de diverses isoformes de tubulines : les tubulines α, β, δ, ε et γ. Cette dernière est la plus abondante, elle constitue des formations annulaires disséminées à la périphérie du COMT et appelés complexe TuRC (Tubulin Ring Complexe). Ils agissent comme des sites de nucléation pour les microtubules ***(Schéma 2).*** Ainsi, les complexes TuRC deviennent les plateformes vers lesquels convergent les tubulines α et β qui structurent la base des microtubules. Ce processus, nécessite au réalable une activation des monomères β par le GTP (en présence d'ions Mg^{++}, in vitro).

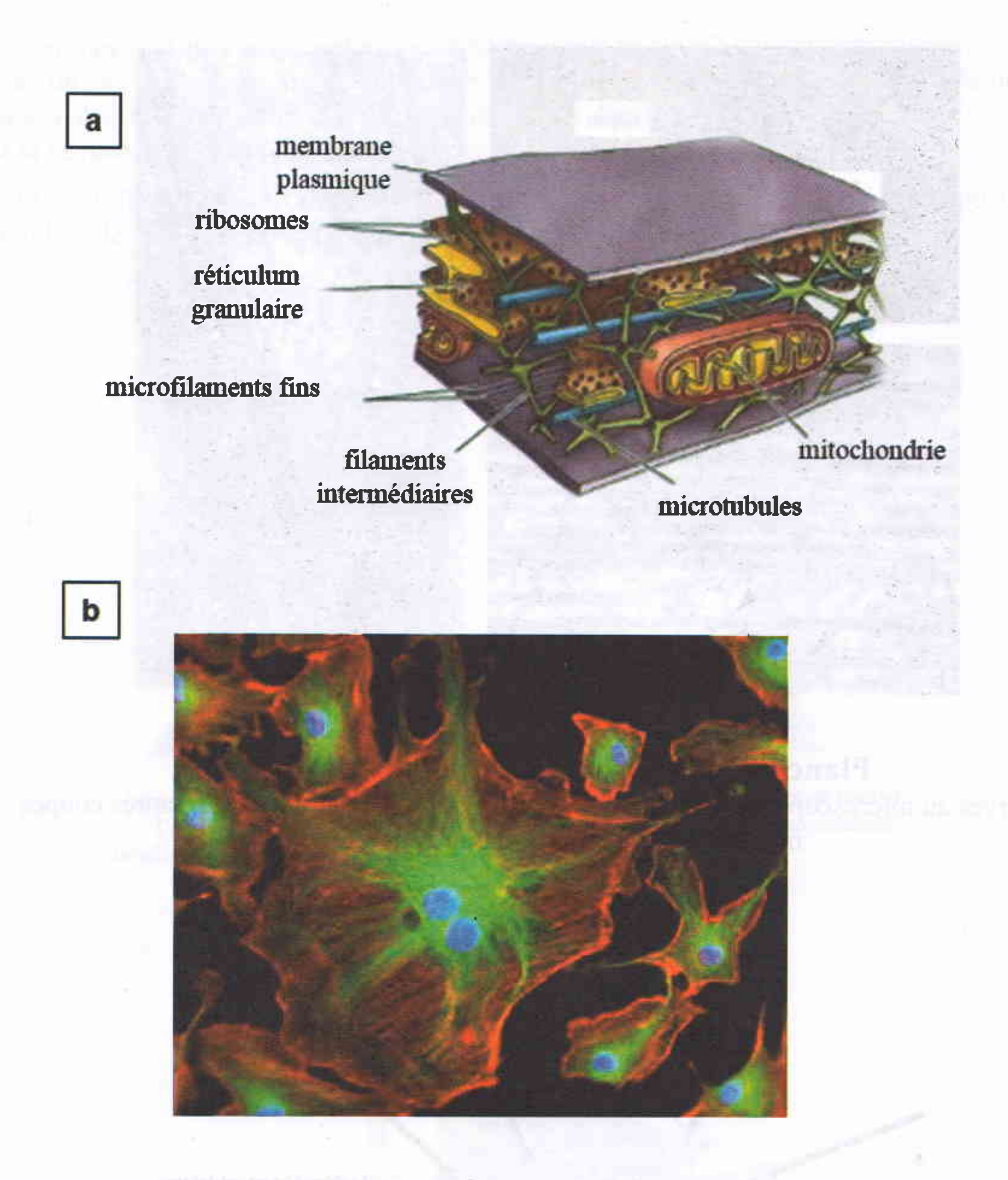


Planche III: Représentation schématique de la distribution des éléments du cytosquelette (a) et leur mise en évidence par triple marquage en microscopie à fluorescence (b).

Microtubules (vert), microfilaments fins (rouge), filaments intermédiaires (jaune)

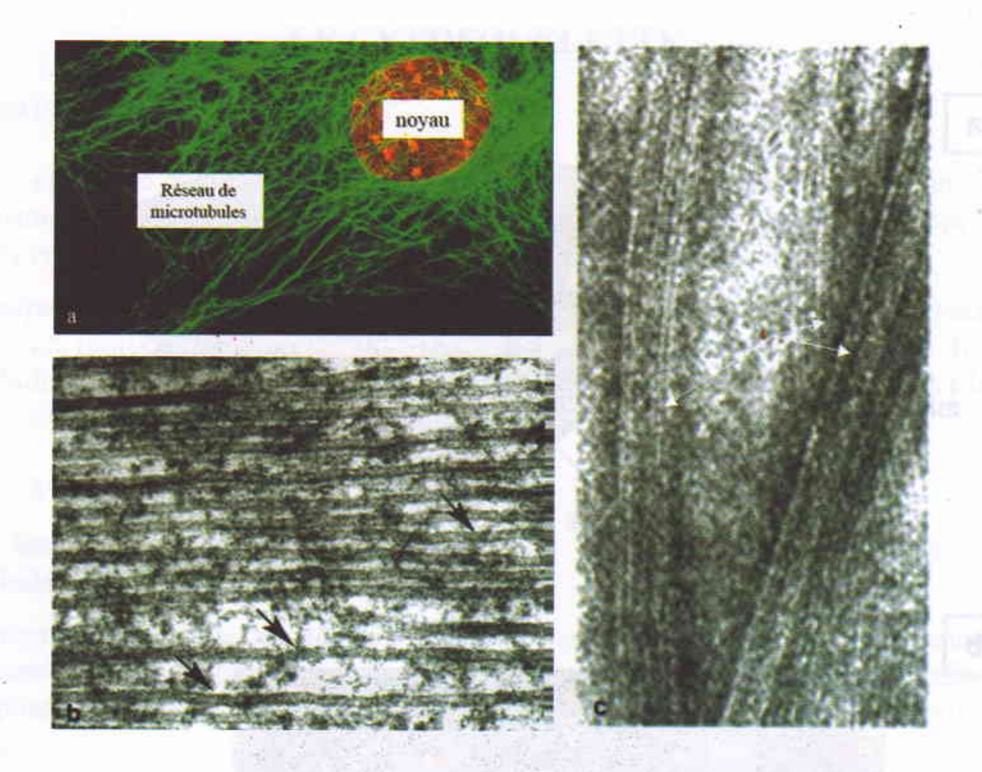


Planche IV: Micrographies de microtubules

Observés au microscope à fluorescence après marquage des tubulines (a), après coupes minces (b) et après coloration négative (c).

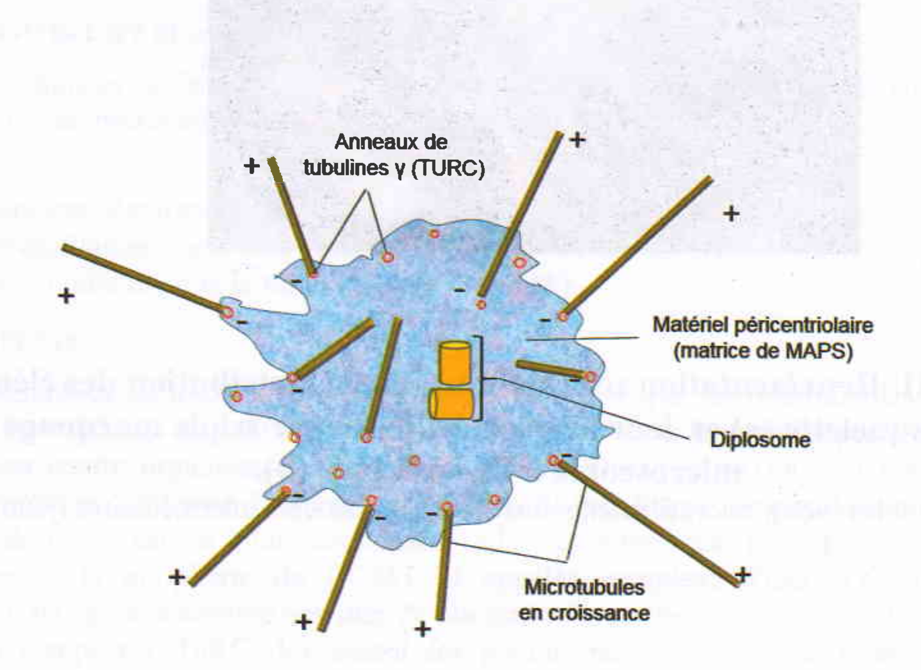


Schéma 2: Représentation schématique de l'organisation du centrosome

Les tubulines α et β s'associent alors en hétérodimères qui s'alignent verticalement pour former un protofilament. Sur le complexe TuRC, la mise en place de 13 protofilaments débute à des vitesses de croissance variables. Un feuillet se constitue progressivement dont la fermeture formera la paroi du microtubule ***(Planche V).***

Les 13 protofilaments sont décalés les uns par rapport aux autres, suite à la disposition hélicoïdale des tubulines α et β ***(Schéma 1 du Fascicule)***.

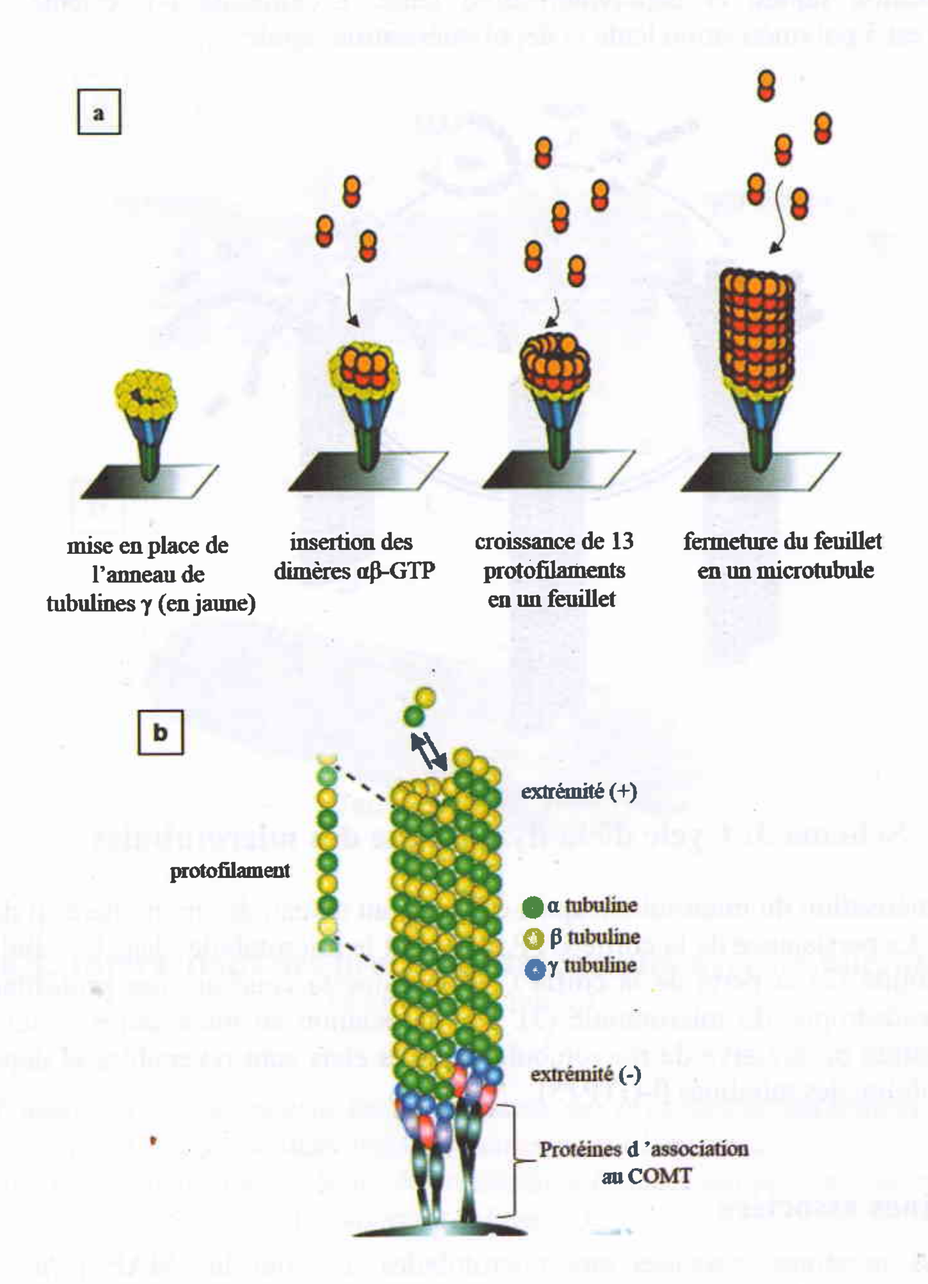


Planche V: Mécanisme de la biogenèse des microtubules labiles
Processus de nucléation (a) et architecture moléculaire d'un microtubule néoformé (b)

1.3 Propriétés

Les microtubules constituent un réseau dynamique et polarisé qui irradie du centrosome vers la périphérie des cellules ***(Schéma 2 du fascicule).***

Les microtubules subissent des cycles de polymérisation (s'allongent) et de dépolymérisation (se raccourcissent) ***(Schéma 3).*** Chaque microtubule possède une extrémité (+) et une extrémité (-). L'extrémité (+), orientée vers la périphérie cellulaire est à polymérisation rapide et dépolymérisation lente. L'extrémité (-), orienté vers le centrosome est à polymérisation lente et dépolymérisation rapide.

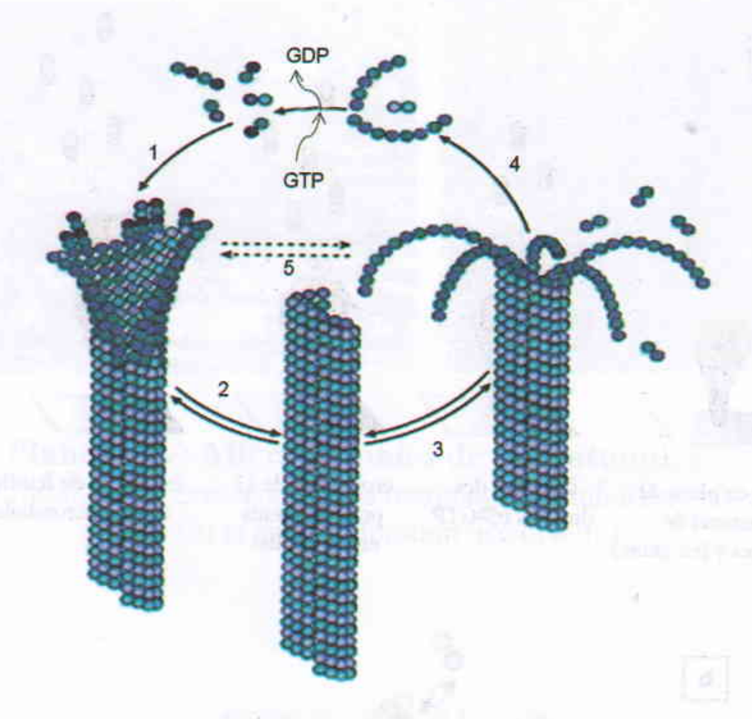


Schéma 3: Cycle de la dynamique des microtubules

En (1) polymérisation du microtubule après échange, au niveau des monomères β du GDP par du GTP. La persistance de la coiffe GTP maintient le microtubule dans la cellule c'est l'état de stabilité (2) la perte de la coiffe GTP entraine la courbure des protofilaments: c'est l'état catastrophe du microtubule (3). La dissociation en monomères conduit à la dépolymérisation progressive du microtubule (4). Ces états sont réversibles et dépendent de la disponibilité des tubulines β-GTP (5).

1.4 Protéines associées

Il existe des protéines associées aux microtubules, ce sont les MAP (*Microtubule Associated Proteins).* On distingue :

Les MAP structurales : elles stabilisent le réseau des microtubules en reliant les microtubules parallèles entre eux. C'est l'effet de la MAP_2 dans les dendrites neuronales et des MAP_4 dans les autres types cellulaires ***(Schéma 4 a).***

Dans les axones neuronaux, il existe une autre MAP structurale : la protéine Tau *(Tubule associated-units)*. Cette protéine interagit avec les tubulines et les stabilise ***(Schéma 4 b)***. Une des caractéristiques de la protéine Tau est sa capacité de phosphorylation. Certains facteurs, encore méconnus, conduisent à l'hyperphosphorylation de Tau, ce qui diminue son affinité pour les microtubules, induisant leur déstabilisation. Sous cette forme, la protéine Tau s'agrège en amas appelés plaques séniles caractéristiques de la maladie d'Alzheimer.

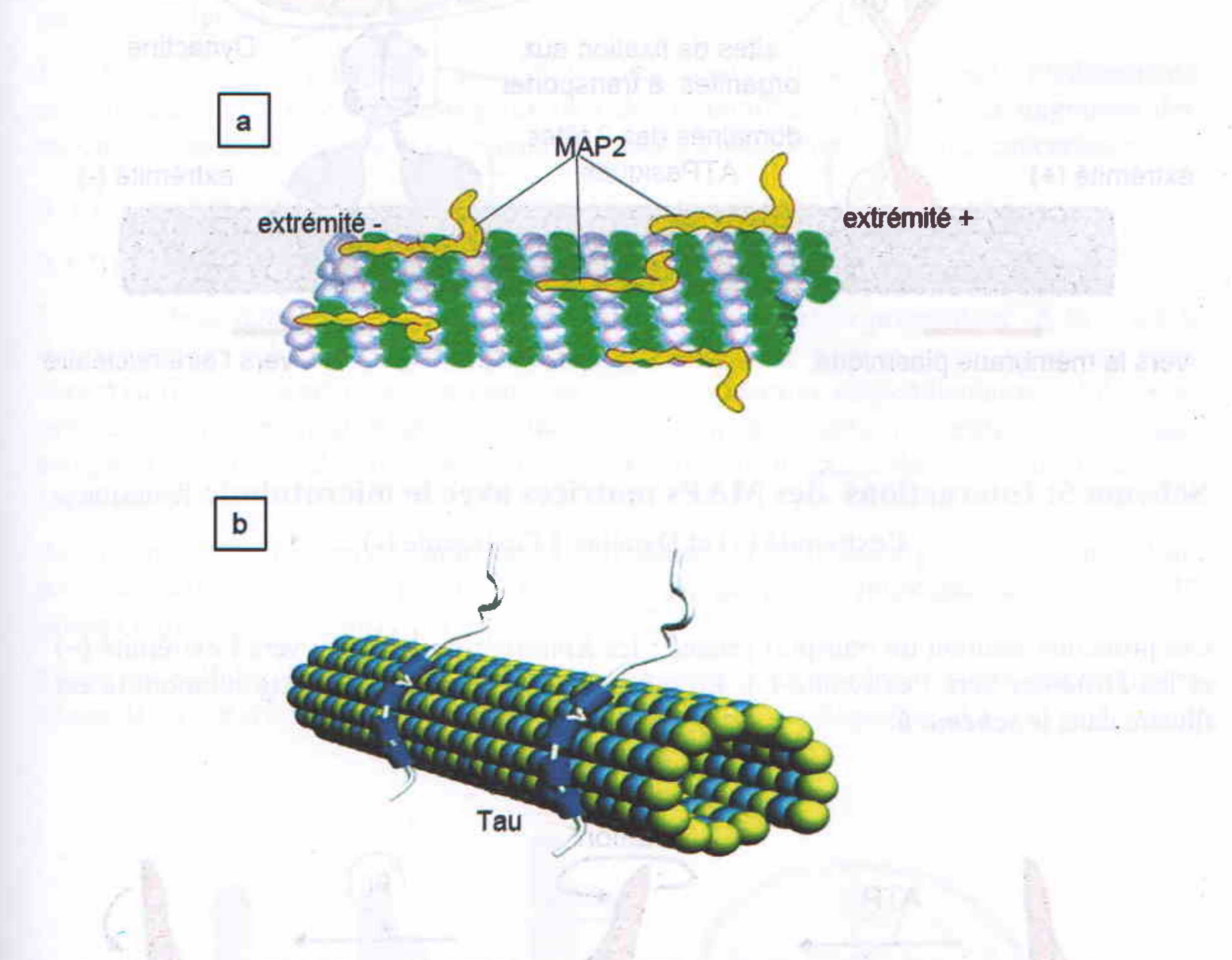


Schéma 4: Interactions des protéines structurales avec les microtubules
MAP 2 (a) et Tau (b)

Les MAP motrices : elles assurent les mouvements des organites et des vésicules le long des microtubules. Elles présentent trois domaines : un domaine de tête qui se fixe au microtubule, un segment intermédiaire et un domaine (queue) qui se fixe à la membrane des vésicules ou des organites à transporter ***(Schéma 5)***.

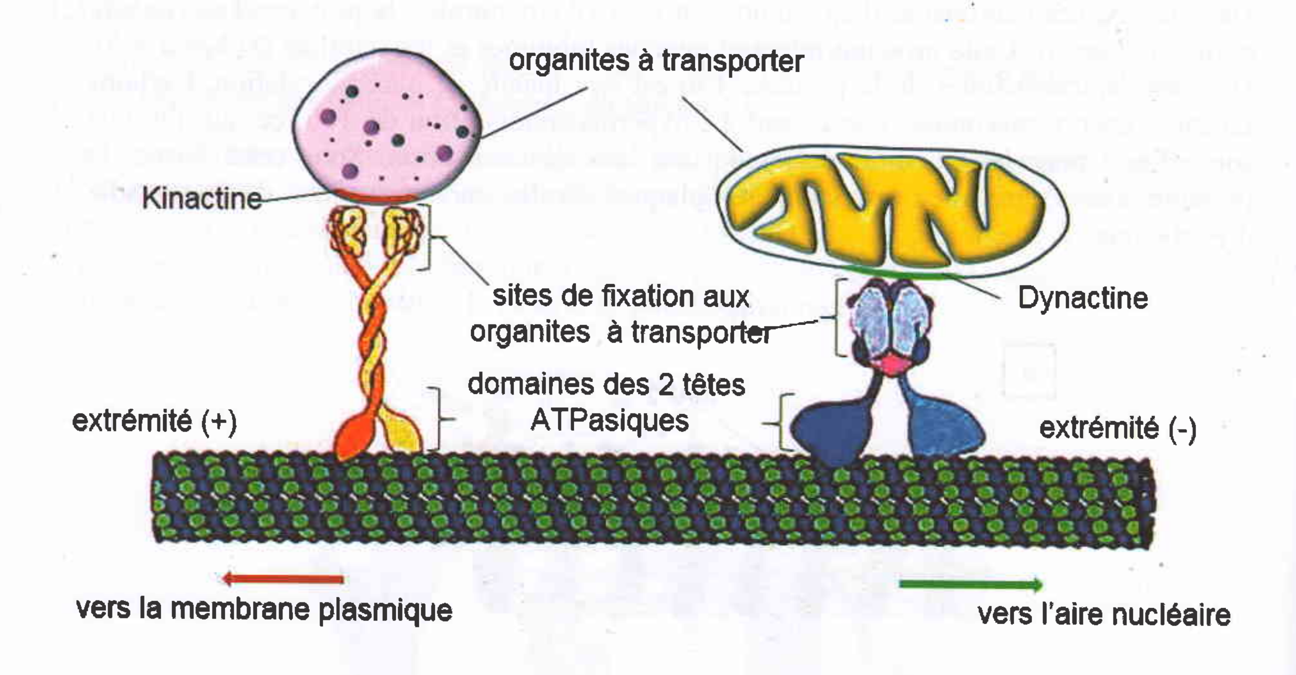


Schéma 5: Interactions des MAPs motrices avec le microtubule Kinesine à l'extrémité (+) et Dynéine à l'extrémité (-)

Ces protéines assurent un transport orienté : les *Kinésines* transportent vers l'extrémité (+) et les *Dynéines* vers l'extrémité (-). Le mécanisme moléculaire de cette biomotilité est illustré dans le ***schéma 6***.

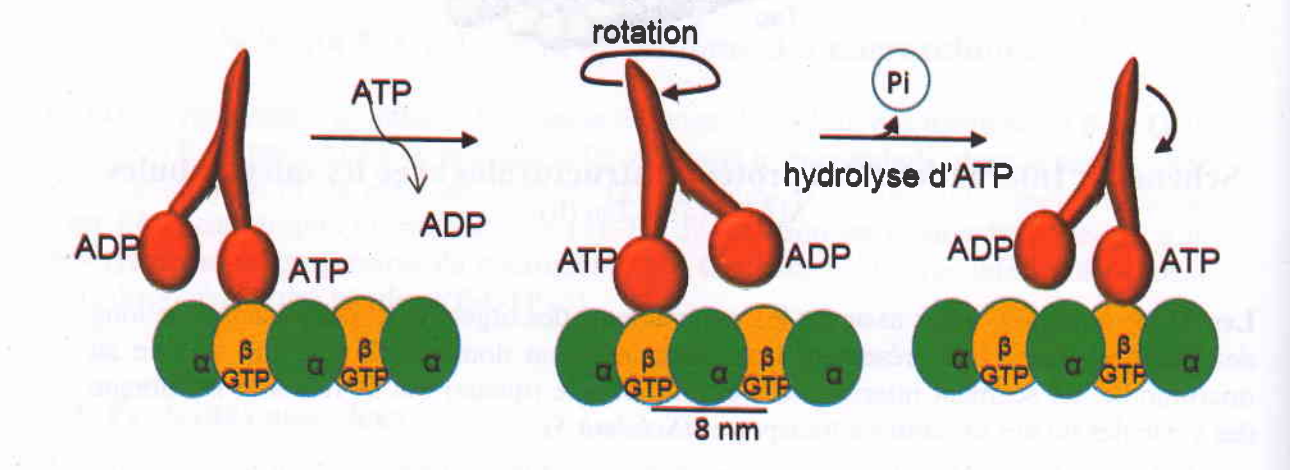


Schéma 6: Représentation du mécanisme de déplacement d'une tête de la kinésine sur un protofilament de microtubule

1.5 Sensibilité aux drogues

Certaines drogues perturbent la dynamique des microtubules. Ainsi la Colchicine et la Vinblastine inhibent la polymérisation en s'associant aux dimères de tubuline, il s'en suit le raccourcissement progressif des microtubules. A l'inverse le Taxol stabilise les microtubules polymérisés ***(Schéma 4 du fascicule)***.

Ces drogues peuvent également perturber le trafic vésiculaire en désorganisant les saccules Golgiens.

En thérapeutique humaine, ces molécules sont utilisées comme médicaments anticancéreux. En effet, la désorganisation des microtubules empêche la migration des chromosomes en métaphase, ce qui empêche la multiplication des cellules cancéreuses.

2. LES MICROTUBULES STABLES

2.1.2 Biogenèse et rôles

Le centriole se développe le plus souvent à partir d'un centriole préexistant. A la phase S de l'interphase, chaque centriole parental du centrosome permet, selon un mode semi conservatif, la genèse d'un nouveau centriole en position perpendiculaire à lui. A la prophase, la polymérisation des microtubules, à partir du matériel péricentriolaire, éloigne progressivement les 2 centrosomes l'un de l'autre en direction des pôles de la cellule **(Schéma 7)**.

Ainsi dans les cellules en division, par sa duplication, le centrosome permet la genèse d'un nouveau centrosome. Ceci induit la mise en place du fuseau mitotique dès la fin de la phase G_2 du cycle cellulaire.

Dans les cellules différenciées, le centrosome permet la production des microtubules libres. Il est aussi à l'origine des dérivés centriolaires (cils et flagelles).

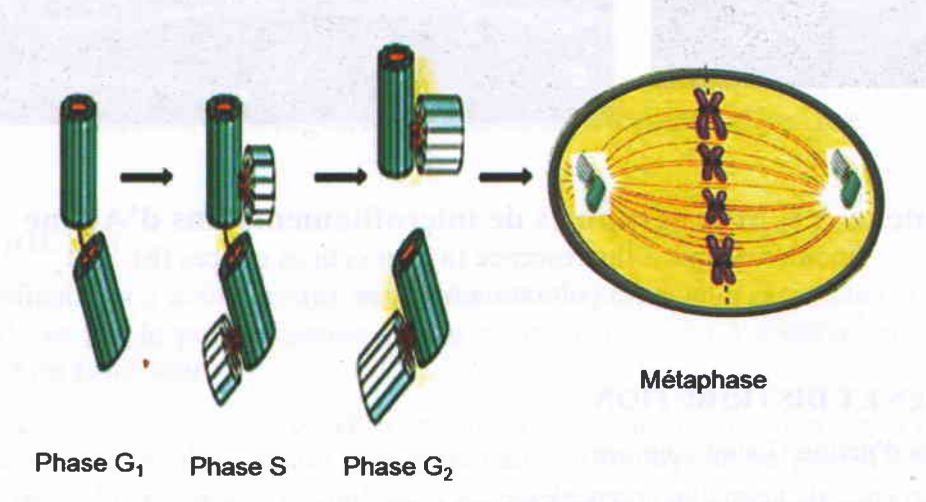


Schéma 7: Duplication des centrioles et leur mise en place aux pôles du fuseau mitotique

B. LES MICROFILAMENTS FINS D'ACTINE

1. ULTRASTRUCTURE ET ARCHITECTURE MOLECULAIRE

Sur coupes minces après coloration positive, les microfilaments fins apparaissent comme des filaments rectilignes mesurant entre 6 et 8 nm de diamètre. La coloration négative montre qu'ils sont formés de l'alignement d'actine G en une hélice monocaténaire ***(Planche VI)***.

L'actine G est la protéine cellulaire la plus abondante, c'est un monomère de forme bivalve délimitant une crevasse au centre de laquelle se fixe l'ATP ou l'ADP.

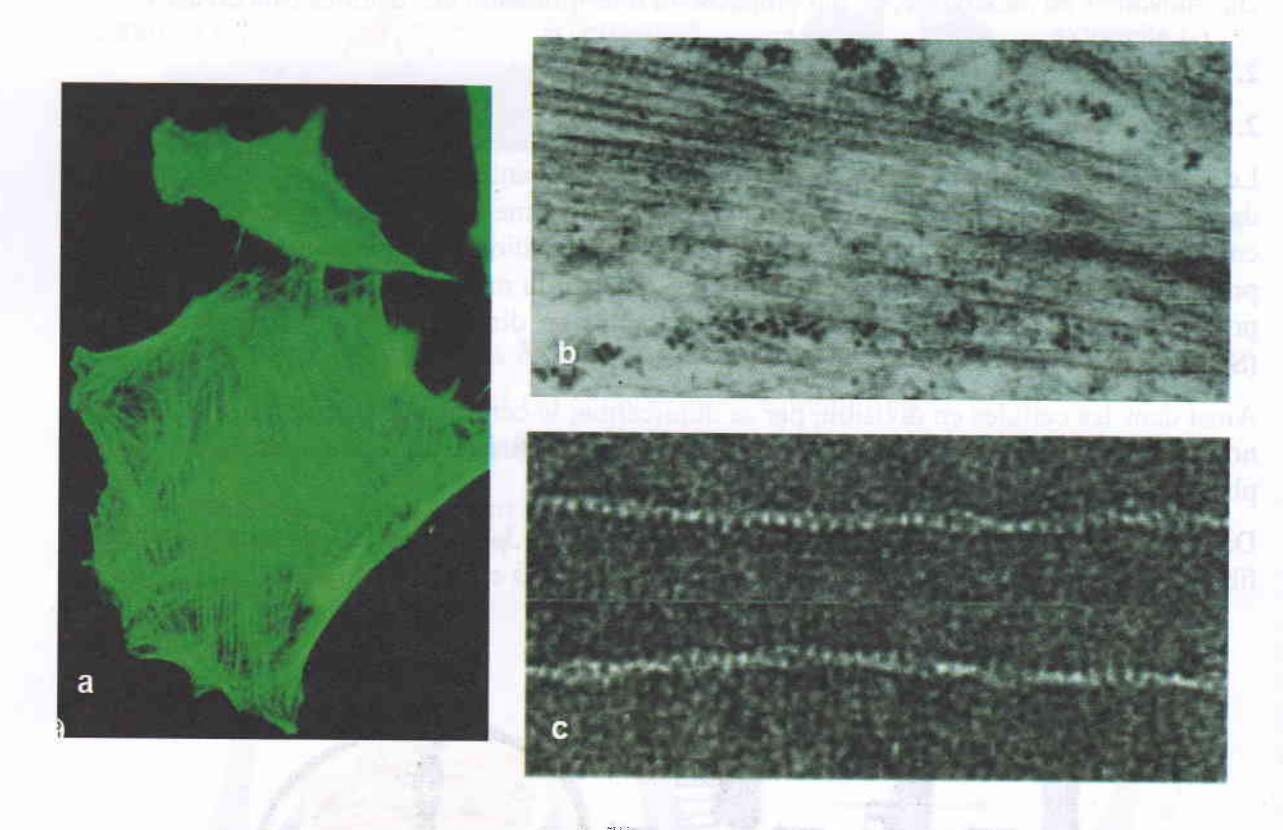


Planche VI: Micrographies de microfilaments fins d'Actine
En microscopie à fluorescence (a), sur coupes minces (b)
et après coloration négative (c).

2. VARIETES ET DISTRIBUTION

Trois variétés d'actine G sont connues :

- **l'actine α,** caractéristique des microfilaments qui composent les disques clairs des myofibrilles dans les cellules musculaires striés et ceux des cellules musculaires lisses.

- l'actine β et l'actine γ forment les microfilaments fins des autres types cellulaires. Ces filaments sont particulièrement concentrés sous la membrane plasmique où elles forment avec les protéines membranaires périphériques internes, le cortex cellulaire.

Ces fibres peuvent avoir une disposition en réseau (fibroblastes), en faisceaux larges parallèles à la membrane (desmosomes de ceinture des cellules épithéliales) ou encore en faisceaux serrés (microvillosités des entérocytes).

3. BIOGENESE

La formation des filaments d'actine nécessite de nombreux facteurs, mais le facteur fondamental est la présence de monomères G liés à l'ATP. Sous cette forme, chaque monomère d'actine est capable de se lier à deux autres monomères pour former des trimères. Ces derniers constituent des sites de nucléation pour les microfilaments d'actine.

En présence d'un complexe protéique dit complexe de nucléation : le complexe ARP 3/3 (Actin associated protein), le trimère est stabilisé et accepte d'autres monomères G-ATP, ce qui permet sa polymérisation en un filament ***(Schéma 8).***

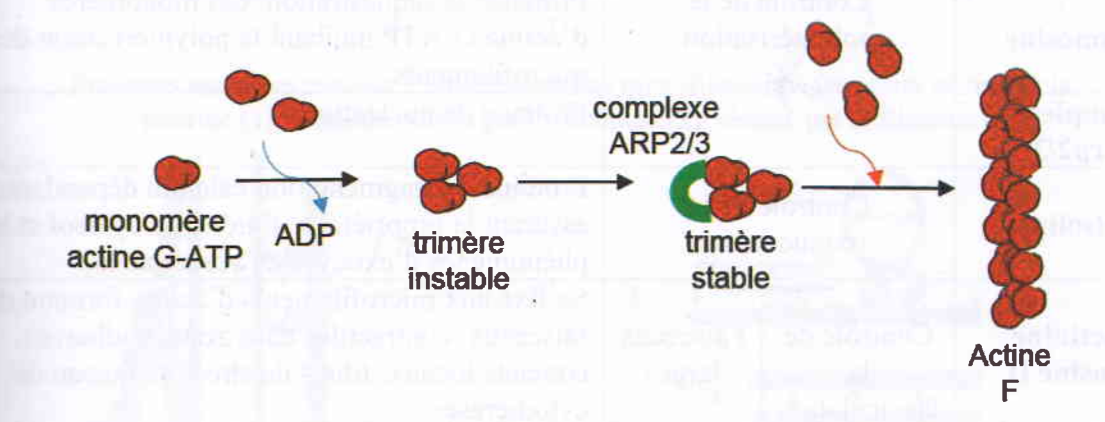


Schéma 8: Biogenèse d'un microfilament d'actine

4. PROPRIETES

Les microfilaments d'actine formés sont polarisés. Ils portent une extrémité (+) au niveau de laquelle se fait la polymérisation rapide et une extrémité (-) à polymérisation lente ***(Schéma 8 du fascicule).***

L'alternance des phases de polymérisation et de dépolymérisation de l'actine est nécessaire à l'activité des cellules non musculaires. Elle dépend du pool d'actine G, de l'ATP et de la force ionique du milieu et assure le renouvellement des microfilaments d'actine selon un modèle de tapis roulant ***(Schéma 9 du fascicule).***

En revanche, cette dynamique ne se produit pas dans les cellules musculaires.

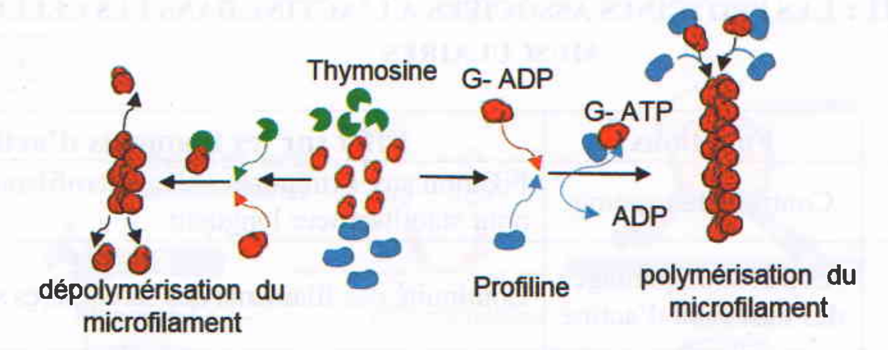
5. PROTEINES ASSOCIEES

De nombreuses protéines cytosoliques peuvent se lier à l'actine G et contrôler sa polymérisation en actine F ou encore contrôler la croissance des filaments, leur organisation et leur ancrage à la membrane plasmique.

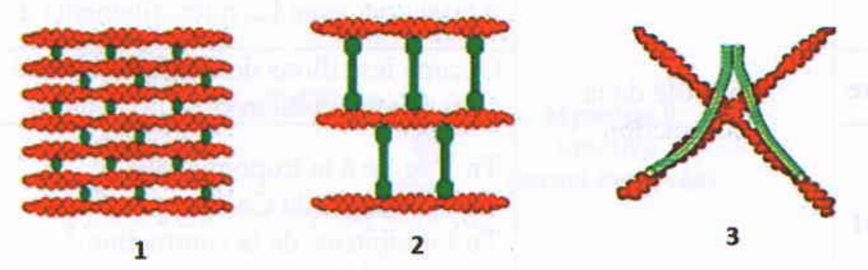
Ces protéines sont représentées dans le **Tableau I** et la **Planche VII** pour les cellules non musculaires et dans le **Tableau II** et la **Planche VI** du fascicule pour les cellules musculaires.

TABLEAU I : LES PROTEINES ASSOCIEES A L'ACTINE DANS LES CELLULES NON MUSCULAIRES

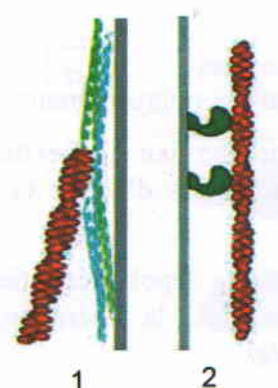
Protéines	Fonctions		Effet sur les monomères / filaments d'actine
Profiline	Contrôle de la polymérisation		L'interaction actine G-Profiline stimule l'échange ADP par ATP et préparation d'un pool d'actine G favorable à la polymérisation.
Thymosine			Protéine de séquestration des monomères d'actine G-ATP inhibant la polymérisation des microfilaments.
Complexe Arp2/3			Protéine de nucléation.
Gelsoline	Contrôle de la fragmentation		Protéine de fragmentation calcium dépendante assurant la propriété de fluidité du cytosol et les phénomènes d'exocytoses vésiculaires.
α-actinine Myosine II	Contrôle de la fasciculation	Faisceaux larges	Se fixe aux microfilaments d'actine formant des faisceaux contractiles dans zonula adherens, contacts focaux, fibres de stress et anneau de cytodiérèse.
Villine Fimbrine		Faisceaux serrés	Se fixent entre les microfilaments d'actine occupant l'axe des microvillosités et/ou des filopodes.
Filamine	Contrôle de la réticulation		Organisation en réseaux favorisant l'état gel du hyaloplasme ou formation des pseudopodes.
Myosine I	Contrôle du mouvement		Interaction avec les microfilaments d'actine lors des évènements d'exocytose.
Myosine I	Contrôle d'ancrage à la membrane plasmique		Association du faisceau serré d'actine aux protéines membranaires dans les axes microvillositaires des cellules épithéliales
Spectrine			Interaction permettant des modifications de forme. Ex : adaptation morphologique du GR aux variations de calibre des vaisseaux



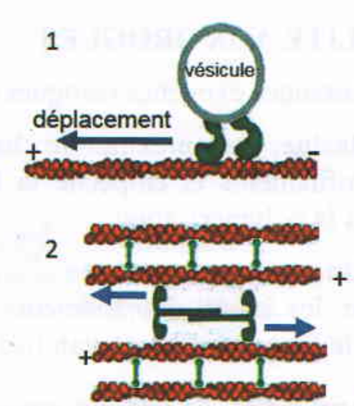
Protéines associées contrôlant la croissance du microfilament



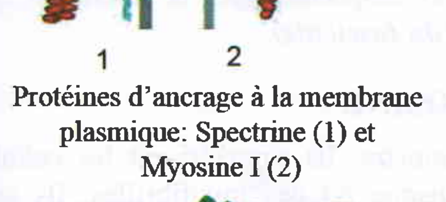
Protéines associées assurant l'organisation des microfilaments: faisceaux serrés par la Fimbrine (1), faisceaux larges par l'α actinine (2), réseau par la filamine (3)



Protéines d'ancrage à la membrane plasmique: Spectrine (1) et Myosine I (2)



Protéines motrices: Exocytose par la Myosine I (1) et contraction par la Myosine II



Protéine de fragmentation : la Gelsoline



Protéine de stabilisation : la Cap Z

Planche VII : Les protéines associées à l'actine dans les cellules non musculaires

TABLEAU II : LES PROTEINES ASSOCIEES A L'ACTINE DANS LES CELLULES MUSCULAIRES

Protéines	Fonctions	Effet sur les filaments d'actine
Cap Z	Contrôle du capping	Fixation aux extrémités + des microfilaments pour stabiliser leur longueur
α actinine	Contrôle du pontage des faisceaux d'actine	Continuité des filaments des sarcomères successifs.
Myosine II	Contrôle de la contraction	Formation des filaments épais bipolaires en interaction avec les microfilaments d'actine.
Tropomyosine		Occupe les sillons de l'hélice d'actine et masque les sites d'interaction avec la myosine II.
Complexe Troponine TnT,TnC,TnI		Tn T se lie à la tropomyosine. Tn C fixatrice du Ca^{++}, Tn I inhibitrice de la contraction.

6. SENSIBILITE AUX DROGUES

Certaines substances exogènes (drogues) perturbent la dynamique des microfilaments:

- **la cytochalasine,** poison extrait de champignons microscopiques, se fixe sur l'extrémité (+) des microfilaments et empêche la fixation de nouvelles molécules d'actine G-ATP inhibant ainsi la polymérisation.

- **la phalloidine,** poison extrait des champignons Amanites, inhibe la dépolymérisation en se fixant sur les côtés des filaments d'actine F et empêche ainsi la libération des monomères, le filament devient stabilisé ***(Schéma 10 du fascicule)***.

C. LES MICROFILAMENTS EPAIS DE MYOSINE

Ce sont des filaments épais de 10 à 15 nm de diamètre. Ils caractérisent les cellules musculaires où ils forment les disques sombres (disque A) des myofibrilles. Ils sont constitués d'une protéine contractile, la Myosine II. Celle-ci est formée :

- de deux têtes globulaires à activité ATPasique réagissant avec l'actine F,
- d'une queue longue. Qui se trouve incurvée à l'état inactif (tête liée à l'ADP) et rectiligne à l'état actif (tête phosphorylée) de la molécule.
- d'un cou qui relie la tête à la queue et sert de levier pour faciliter les mouvements de la tête.

La phosphorylation des têtes de myosine induit leur autoassemblage selon un modèle tête-bêche conduisant à la formation de filaments bipolaires ***(Planche VIII b)***.

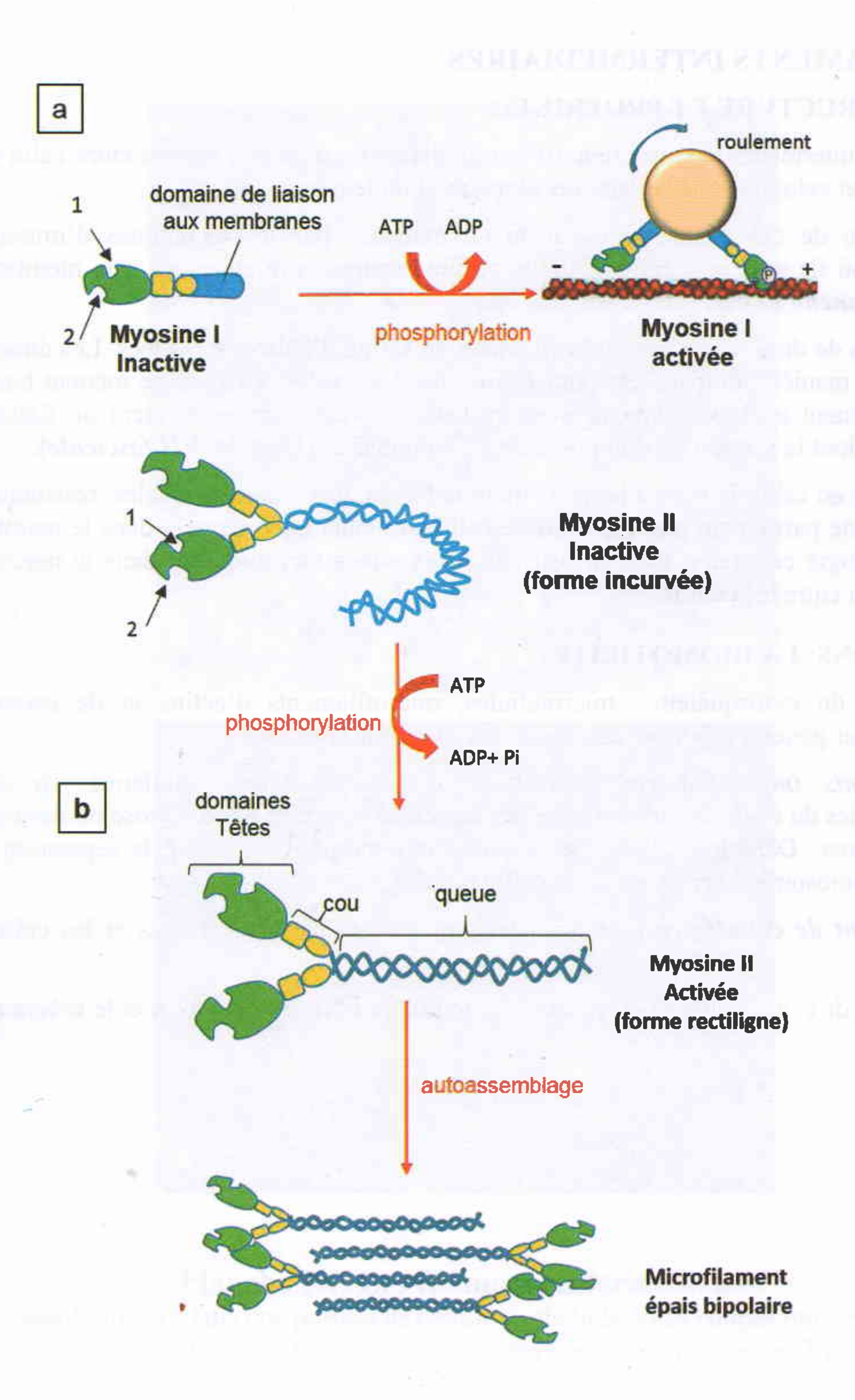


Planche VIII : Organisation moléculaire et mécanisme d'activation des myosines I (a) et II (b).

1: site de fixation pour ATP/ADP, 2: site de fixation à l'actine

D. LES FILAMENTS INTERMEDIAIRES

1. ULTRASTRUCTURE ET PROPRIETES

Les filaments intermédiaires mesurent 10 nm de diamètre, diamètre moyen entre celui des microtubules et celui des microfilaments d'actine, d'où leur appellation.

La distribution de ces filaments est mise en évidence par les techniques d'immuno-fluorescence où ils sont concentrés dans la région périnucléaire et ancrés à la membrane plasmique ***(Planche IX).***

Ils sont formés de dimères de protéines fibreuses en forme d'hélices torsadées. Les dimères s'associent de manière antiparallèle pour former des tétramères. Ceux ci se mettent bout à bout et constituent un protofilament. 8 protofilaments s'associent et forment un filament intermédiaire dont la section est composée de 32 monomères ***(Planche VII fascicule).***

Cette structure en câble fait des filaments intermédiaires, des éléments stables, résistants et élastiques. Ils ne participent pas à la motilité cellulaire mais interviennent dans le maintien de la morphologie cellulaire, dans la résistance aux stress mécanique et dans le maintien d'une cohésion entre les cellules.

E- FONCTIONS: LA BIOMOTILITE

Les éléments du cytosquelette : microtubules, microfilaments d'actine et de myosine collaborent pour générer des mouvements. Ceux-ci sont classés en :

- ***mouvements intracellulaires*** généralisés à tous les types cellulaires. Ils sont responsables du trafic des organites et des vésicules issues de l'endocytose ou destinées à l'exocytose. Dans les cellules mitotiques, cette biomotilité assure la séparation du stock chromosomique entre les deux cellules filles.
- ***mouvement de cellules entières*** caractérisant les cellules musculaires et les cellules libres.

Le mécanisme de cette motricité est résumé sur le **tableau III**, la ***planche X*** et le ***schéma 9***.

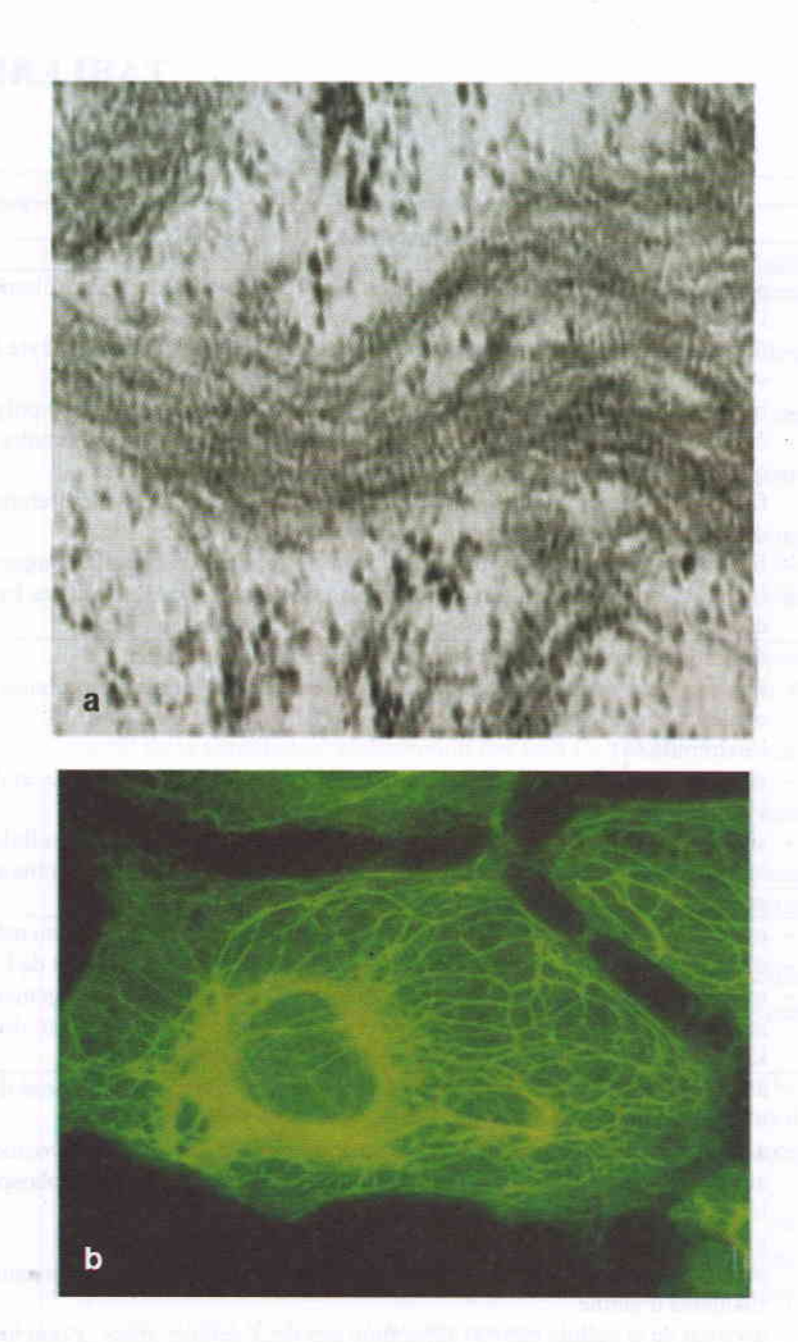


Planche IX: Les filaments intermédiaires

Tonofilaments dans une portion de cellule épithéliale après coupes minces (a) et neurofilaments dans un neurone après immunofluorescence (b).

TABLEAU III : LES FO

CLASSIFICATION		MECANISME MOLECULAIRE
Mouvements intracellulaires	vésicules d'endocytose	- pincement de la membrane plasmique et polymérisation des microfilaments d'actine sous l'action de la profiline - fermeture de la membrane plasmique et emballage du produit endocyté à l'intérieur d'une vésicule - interaction de la membrane vésiculaire aux microfilaments d'actine polymérisant - éloignement de la vésicule d'endocytose de la région sous membranaire sous l'action de la queue d'actine - fixation de la membrane vésiculaire sur l'extrémité (+) d'un microtubule par la dynéine, et déplacement vers l'extrémité (-), - fusion membranaire et hydrolyse du matériel vésiculaire dans le compartiment endosomal (phagosome dans le cas des cellules phagocytaires) sous l'action des hydrolases acides d'origine Golgienne ***(Planche VIII du fascicule).***
	vésicules d'exocytose	- formation d'une vésicule d'origine Golgienne ou endosomale - fixation de la membrane vésiculaire sur l'extrémité (-) des microtubules par les kinésines, et déplacement vers - l'extrémité (+), - fixation des vésicules sur l'extrémité (-) des microfilaments d'actine, et déplacement vers l'extrémité (+) - signal d'exocytose par élévation de la concentration calcique intracellulaire, activation de la gelsoline et destruction locale du cortex cellulaire, fusion membranaire et libération du produit ***(Planche VIII du fascicule)***
	Migration des chromosomes	- mise en place des chromosomes dans la région équatoriale du fuseau métaphasique - division de chaque chromosome en 2 chromatides fils dès le début de l'anaphase - migration des chromatides vers les pôles du fuseau suite aux allongements des microtubules labiles polaires par polymérisation et raccourcissement des microtubules kinétochoriens par dépolymérisation ***(Planche IX du fascicule)***
	Cytodiérèse	- à l'anaphase, début de mise en place d'un anneau contractile composé d'un faisceau de d'actine associé à la myosine II. - à la télophase, attachement et détachements répétés des têtes de myosine II à d'actine suite aux cycles d'activation et d'inactivation par phosphorylation et déphosphorylation des têtes de myosine II. - glissement des microfilaments les uns par rapport aux autres. - étranglement progressif de l'anneau contractile par dépolymérisation continue du des filaments d'actine. - division de la cellule mère et séparation des deux cellules filles ***(Planche X du fascicule).***
Battement des cils (cas des cellules ciliées des épithéliums bronchiques)		- battement synchrone des cils grâce à la racine ciliaire ***(Schéma 13, fascicule 1)***, - transport du liquide bronchique de la profondeur des bronches vers les trachées, - élimination des particules inhalées.

FORMES DE BIOMOTILITE

CLASSIFICATION		MECANISME MOLECULAIRE
Mouvements de cellules entiéres	Contraction des cellules musculaires	- arrivée de la stimulation nerveuse sur la membrane post synaptique : le sarcolemme, - libération du Ca^{++} par les canaux calciques voltage dépendants de la membrane sarcoplasmique, - fixation des ions Ca^{++} sur les troponine C et modification de la configuration spatiale du complexe de troponine, - soulèvement des molécules de tropomyosine, et libération des sites d'accrochage de l'actine, - activation par l'ATP des têtes de myosine II et accrochage aux sites de liaison situés sur les molécules d'actine, - suite aux cycles répétés d'accrochage -décrochage des têtes de myosine II, glissement des filaments d'actine, - raccourcissement progressif des sarcomères compris entre les lignes Z successives accompagné d'un - raccourcissement des tries I, disparition des zones claires et rapprochement des stries A, - en parallèle raccourcissement des myofibrilles et donc de l'ensemble de la cellule musculaire - arrêt de la stimulation, réabsorption des ions Ca^{++}par le réticulum sarcoplasmique,et retour à la configuration initiale du - complexe troponine , et interaction des filaments de tropomyosine aux microfilaments d'actine pour masquer de nouveau - les sites d'accrochage : arrêt de la contraction ***(Planche XI du fascicule et schéma).***
	Mouvements amiboïdes (fibroblastes en culture leucocytes, cellules cancéreuses)	- adhésion au substrat par interaction des intégrines membranaires aux molécules de la matrice extracellulaire par des contacts focaux. - mise en place de fibres de stress composés de faisceaux contractiles d'actine associés par l' α actinine interagissant avec la myosine II *provoque* le soulèvement de la cellule (***Planche XII couleur du fascicule 1 et schéma 10)*** - rétraction de la région postérieure suite à la diminution de la surface membranaire résultant de l'endocytose et la dépolymérisation locale des microfilaments d'actine du cortex. - transport des vésicules vers le centre cellulaire par interaction aux microtubules et dynéines sans fusion à l'endosome. - exocytose à l'avant de la cellule: augmentation de la surface membranaire par désagrégation locale des du réseaucorticale après intervention de la gelsoline, et polymérisation des microfilaments d'actine à l'extrémité (+) poussant la membrane et donc la cellule dans la direction du mouvement. - En parallèle, perte des contacts focaux à l'arrière et formation de nouveaux points d'adhésion à l'avant. - le cycle reprend jusqu'à arrivée de la cellule à destination.
	Mouvements flagellés	- courbure des têtes de dynéines après hydrolyse d'ATP, - glissement des microtubules A et B des doublets voisins l'un par rapport à l'autre ***(Schéma 13, fascicule 1).***

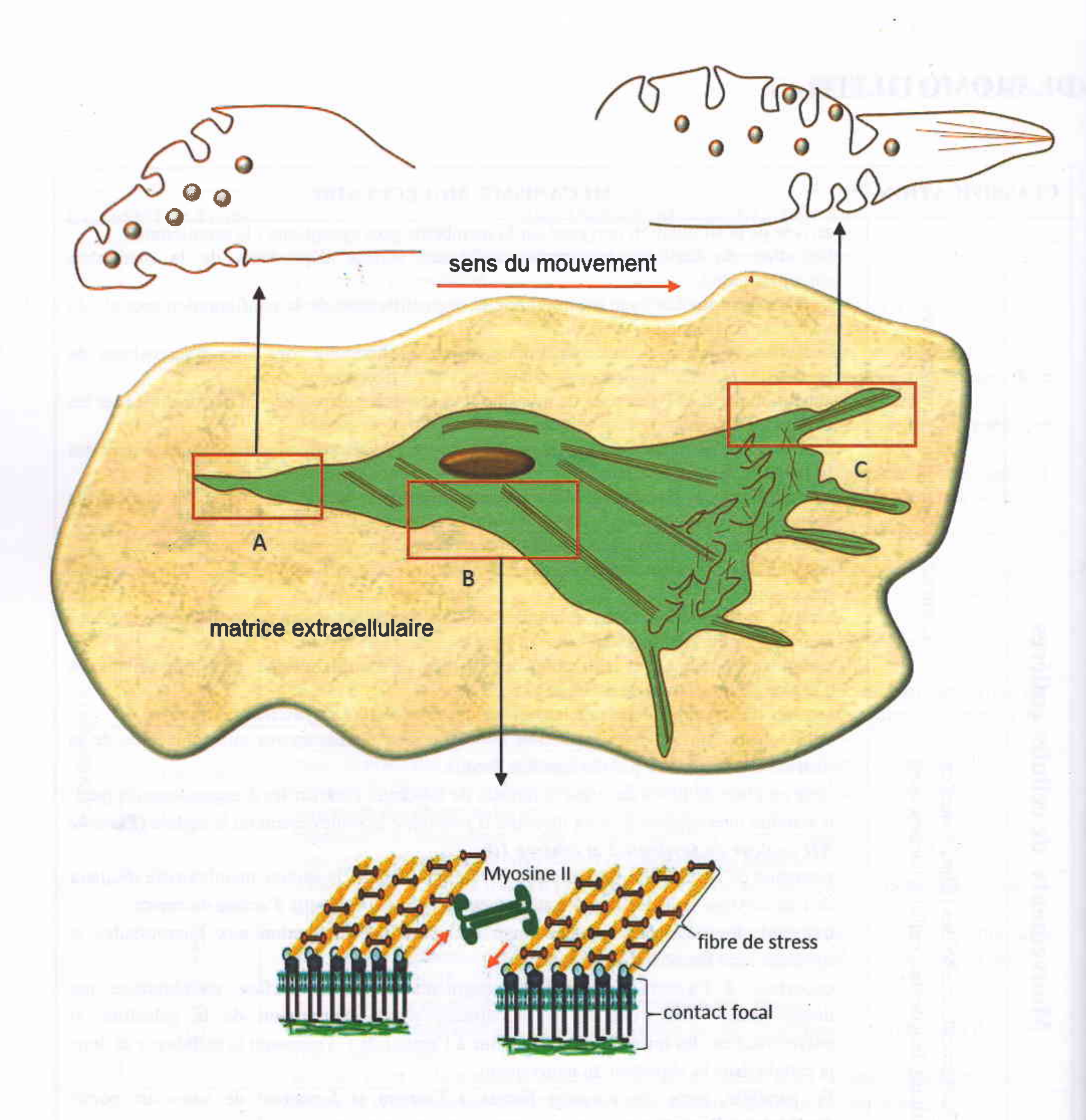
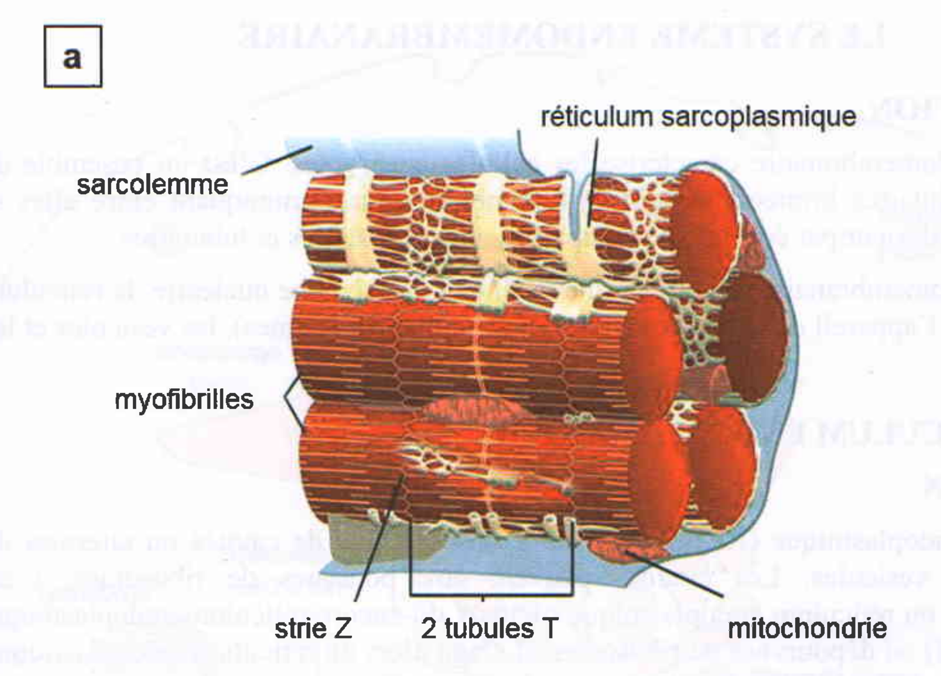


Schéma 9: Mouvement amiboïde d'un fibroblaste en culture
Endocytose postérieure(A), contraction des fibres de stress associées aux contacts focaux (B), exocytose antérieure (C).



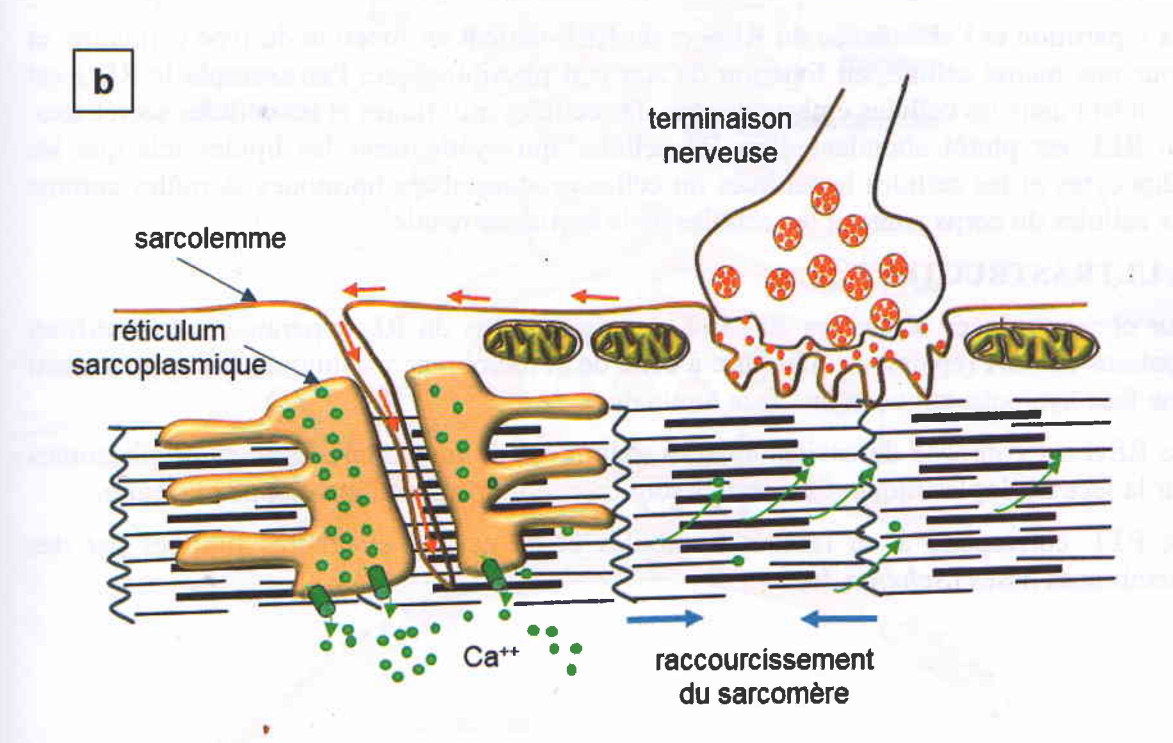


Planche X: Les myofibrilles
Aspect ultrastructural (a) et effet du Calcium (b)

LE SYSTEME ENDOMEMBRANAIRE

INTRODUCTION

Le système endomembranaire caractérise les cellules eucaryotes. C'est un ensemble de cavités intracellulaires limitées par une cytomembrane et communiquant entre elles et avec le milieu extérieur par échange de compartiments vésiculaires et tubulaires.

Le système endomembranaire regroupe principalement l'enveloppe nucléaire, le réticulum endoplasmique, l'appareil de Golgi, les endosomes (et/ou phagosomes), les vésicules et les lysosomes.

A / LE RETICULUM ENDOPLASMIQUE

1. DEFINITION

Le réticulum endoplasmique (RE) correspond à un ensemble de cavités ou citernes, de canalicules ou vésicules. Les citernes peuvent être pourvues de ribosomes, c'est l'ergastoplasme ou réticulum endoplasmique rugueux dit encore réticulum endoplasmique granulaire (REG) ou dépourvues de ribosomes, il s'agit alors du réticulum endoplasmique lisse (REL) nommé également réticulum agranulaire.

La répartition et l'abondance du REG et du REL varient en fonction du type cellulaire, et pour une même cellule, en fonction de son état physiologique. Par exemple le REG est abondant dans les cellules embryonnaires, les cellules mitotiques et les cellules sécrétrices. Le REL est plutôt abondant dans les cellules qui synthétisent les lipides tels que les adipocytes et les cellules hépatiques ou celles produisant les hormones stéroïdes comme les cellules du corps jaune et les cellules de la corticosurrénale.

2. ULTRASTRUCTURE

Sur coupes minces observées au MET, les membranes du RE apparaissent tristratifiées épaisses de 60Å (épaisseur inférieure à celle de la membrane plasmique). Elles présentent une face hyaloplasmique et une face luminale.

Le REG est composé de cavités aplaties délimitées de membranes garnies de ribosomes sur la face hyaloplasmique. Ces cavités sont en continuité avec l'enveloppe nucléaire.

Le REL correspond à un réseau de tubules et de cavités circulaires limitées par des membranes lisses ***(Schéma 10).***

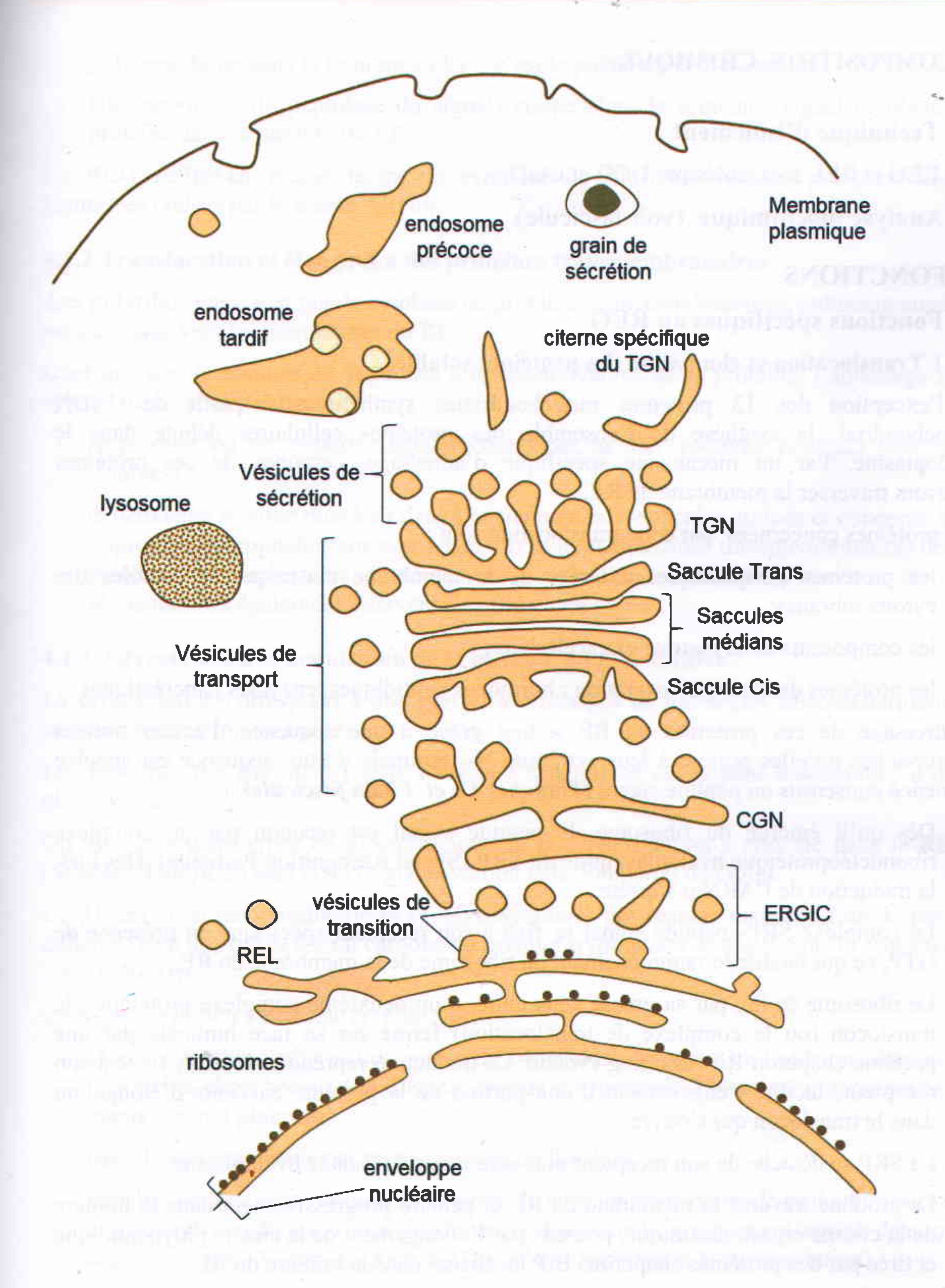


Schéma 10: Représentation schématique des composantes ultrastructurales du système endomembranaire

3. COMPOSITION CHIMIQUE

3.1 Technique d'isolement

Les REG et REL sont isolés par UCD et UGD.

3.2 Analyse biochimique (voir fascicule)

4. FONCTIONS

4.1 Fonctions spécifiques au REG

4.1.1 Translocation et élongation des protéines solubles

A l'exception des 13 protéines mitochondriales synthétisées à partir de l'ADN mitochondrial, la synthèse de l'ensemble des protéines cellulaires débute dans le hyaloplasme. Par un mécanisme spécifique d'adressage, certaines de ces protéines pourront traverser la membrane du RE.

Les protéines concernées par cette translocation sont :

- les protéines périphériques externes de la membrane plasmique et solubles des cytomembranes;
- les composants de la matrice extracellulaire;
- les protéines destinées à l'excrétion : hormones peptidiques, enzymes pancréatiques…

L'adressage de ces protéines au RE a lieu grâce à une séquence d'acides aminés hydrophobes qu'elles portent à leur extrémité N- terminale. Cette séquence est appelée séquence consensus ou peptide signal ***(Planches I a et I b du fascicule)***.

- Dès qu'il émerge du ribosome, le peptide signal est reconnu par un complexe ribonucléoprotéique hyaloplasmique dit SRP (Signal Recognition Particule). Dès lors, la traduction de l'ARNm s'arrête.
- Le complexe SRP- peptide signal se fixe à son récepteur spécifique en présence de GTP, ce qui facilite le rapprochement du ribosome de la membrane du RE.
- Le ribosome se lie, par sa grosse sous unité, à un deuxième complexe protéique : le translocon (ou le complexe de translocation) fermé sur sa face luminale par une protéine chaperon BiP: Binding Protein. La traduction reprend et la SRP, fixée à son récepteur, facilite l'engagement d'une portion de la protéine en cours d'élongation dans le translocon qui s'ouvre.
- La SRP se détache de son récepteur puis sera recyclée dans le hyaloplasme.
- La protéine traverse la membrane du RE et pénètre progressivement dans la lumière de la citerne ergastoplasmique, poussée par l'allongement de la chaîne polypeptidique et tirée par des protéines chaperons BiP localisées dans la lumière du RE.
- La séquence signal devient enchâssée dans la membrane du RE.
- La traduction de l'ARNm se poursuit jusqu'au passage de la totalité de la chaîne

polypeptidique dans la lumière du RE : c'est le phénomène d'élongation.

- Une peptidase (la peptidase du signal) coupe alors la séquence signal et libère la protéine dans la lumière du RE.

Le REG réalise en même temps la synthèse de plusieurs chaînes polypeptidiques identiques codées par le même ARNm.

4.1.2 Translocation et élongation des protéines transmembranaires

Les polyribosomes, assurant la synthèse de protéines transmembranaires, subissent aussi un adressage vers les membranes du RE.

Quel que soit le nombre de domaines transmembranaires de la protéine, l'adressage fait appel à deux types de signaux :

- le premier est un peptide signal reconnu par la SRP (comme pour les protéines solubles),
- le deuxième se situe plus loin dans l'enchaînement des acides aminés et concerne des séquences hydrophobes correspondant aux futures domaines transmembranaires de la protéine. On parle alors de séquences d'arrêt. Le mécanisme d'insertion de ces séquences fait également intervenir les Bip chaperonnes.

4.1.3 Glycosylation et acquisition de la configuration définitive

La glycosylation correspond à une greffe (accrochage) de molécules oligosacharidiques sur une protéine (ou un lipide).

Les protéines qui transitent par le REG et l'appareil de Golgi sont susceptibles d'être glycosylées.

On distingue deux types de glycosylation : la N- glycosylation s'effectue dans le REG ***(Schéma 3 du fascicule)*** et la O-glycosylation dans l'appareil de Golgi.

Le RE est aussi responsable de la C- glycosylation : des résidus mannose fournis par le dolichol sont accrochés sur un carbone du premier tryptophane engagé dans la séquence -Trp- X-X- Trp-.

La N-glycosylation s'effectue comme suit:

- accrochage d'une arborisation sucrée de 14 résidus glycosyl à un lipide membranaire, le dolichol phosphorylé. Cet oligosaccharide est formé de 2 N-acetyl glucosamines, 9 mannoses et 3 glucoses.
- bascule de la molécule par un mécanisme de flip-flop
- transfert en bloc à un résidu d'asparagine de la protéine en cours de traduction par une N-glycosyl transférase. Cette greffe est réalisée sur le groupement aminé dans une séquence –Asn- X- Ser- ou Asn- X- Thr (d'où l'appellation N-glycosylation).
- modification de l'arbre oligosacharidique par élagage de 4 résidus osidiques (1 mannose et 3 glucoses) grâce aux glycosidases.

- Plusieurs mécanismes contribuent à donner aux protéines néo synthétisées leur configuration définitive.
- les protéines-disulfure isomérases (PDI), enzymes solubles, catalysent à la fois le clivage des liaisons disulfures établies au hasard, dès que la partie néosynthétisée de la protéine est entrée dans la lumière du RE, et la formation des ponts disulfures définitifs ***(Schéma 11)***.
- les BiP participent au repliement des protéines N glycosylées pour l'acquisition de leur configuration en trois dimensions.

Remarque :

Avant leur exportation les protéines solubles ou transmembranaires néo synthétisées subissent « un contrôle de qualité ». En effet une protéine mal configurée s'accumule dans le RE puis repasse dans le hyaloplasme via le translocon pour y être dégradée par le protéasome.

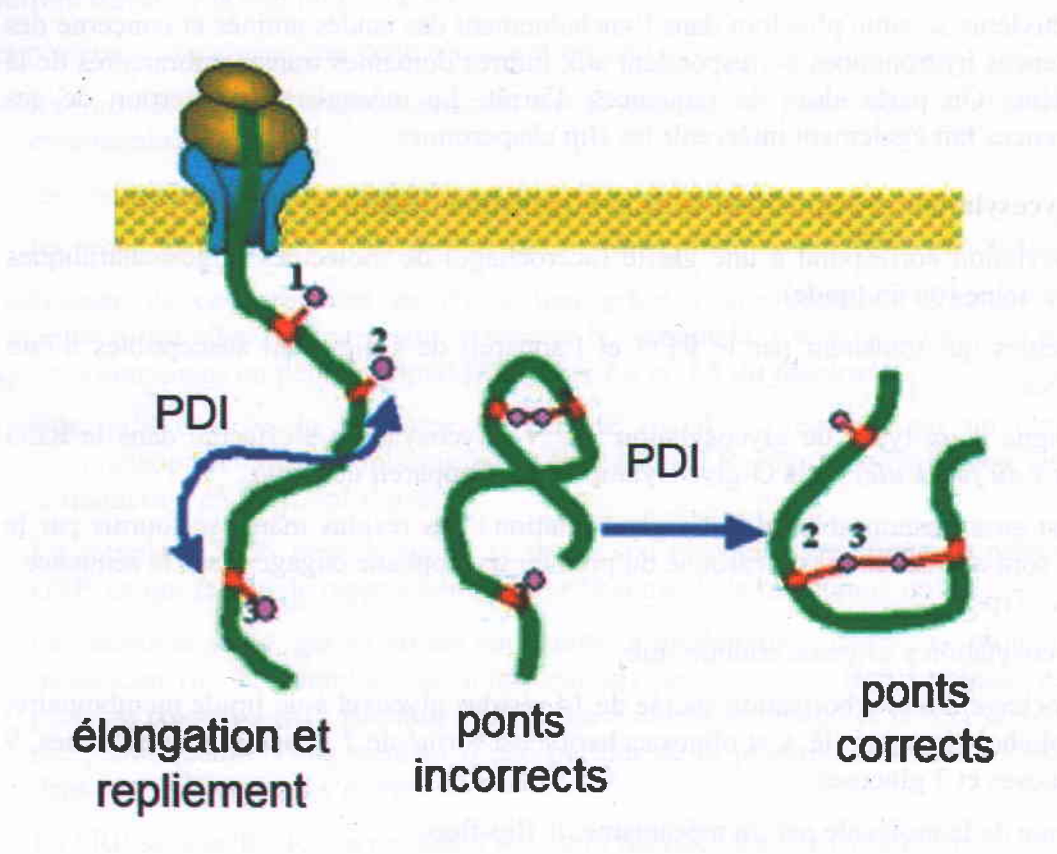


Schéma 11: Repliement et établissement des ponts disulfures
Résidus cystéine (1,2, 3)

B / L'APPAREIL DE GOLGI

1. DEFINITION

Il a été observé la première fois au microscope photonique par le biologiste Golgi en 1898 dans les cellules nerveuses où il se présente sous forme de petites écailles, localisées près du noyau.

2. ULTRASTRUCTURE

L'appareil de Golgi correspond à l'ensemble des dictyosomes d'une cellule. Au MET, un dictyosome apparaît formé d'un empilement de 4 à 10 saccules incurvés à bords dilatés, limités par une membrane tristratifée et séparés les uns des autres par une bande hyaloplasmique. Chaque dictyosome est environné de vésicules de tailles différentes.

Cette organisation est en partie assurée par l'interaction membranes des saccules–microtubules, comme en témoigne la désorganisation de l'appareil de Golgi causée par des drogues dépolymérisantes telle que la Colchicine. L'actine et ses protéines associées contribuent aussi à la cohésion des citernes golgiennes entre elles.

On compte en moyenne 20 dictyosomes par cellule, mais ce nombre peut varier selon l'état physiologique et le type cellulaire.

Ex : dans la cellule glandulaire ainsi que dans la cellule nerveuse, l'appareil de Golgi est très développé, il l'est moins bien dans la cellule musculaire.

Chaque dictyosome est polarisé et subdivisé en trois régions fonctionnelles différentes ***(Schéma 7 du fascicule)*** :

- une face d'entrée encore dite face Cis, en relation avec un réseau vésiculaire et canaliculaire : le CGN (Cis Golgi Network),
- des saccules de la région médiane,
- une face de sortie en continuité avec un réseau de canalicules et de vésicules constituant le TGN (Trans Golgi Network).

L'épaisseur des membranes des saccules Cis est de 60 Å alors que celle des saccules Trans est de 75 Å.

Des vésicules de dimensions variables ainsi que des tubules accompagnent les saccules Golgiens; elles sont classées en:

- vésicules et tubules provenant de l'ERGIC : un compartiment situé entre la face Cis et le REG. Elles sont dites vésicules de transition
- vésicules de transport bourgeonnant latéralement des différents saccules Golgiens.

Ces deux populations utilisent un revêtement protéique de coatomères (CopI ou Cop II) selon la direction de leur transport.

- des vésicules de sécrétion issues du TGN et formant la face trans des dictyosomes ; elles représentent la forme d'emballage des produits finaux de l'appareil de Golgi. Selon leur contenu, elles seront adressées à différents compartiments en utilisant des revêtements de clathrine ou de cavéoline.

4. FONCTIONS DE L'APPAREIL DE GOLGI

Les protéines synthétisées dans le REG transitent par les différents saccules Golgiens pour y subir des modifications post traductionnelles. L'ensemble de ces modifications constitue un procédé de tri moléculaire facilitant leur adressage au compartiment receveur. Ces fonctions seront abordées selon leur progression dans les saccules.

4.1 Phosphorylation

Au niveau des saccules Cis du Golgi les protéines solubles glycosylées destinées aux endosomes ou aux vacuoles autophagiques ou aux phagosomes, doivent subir une phosphorylation indispensable à leur maturation en enzymes digestives dites hydrolases acides.

Cette phosphorylation se produit en 2 étapes :

- une N-acétyl-glucosamine phospho-transférase (GlcNac-P-transférase) accroche un résidu N-acétyl-glucosamine-phosphate (GlcNac-P) au carbone 6 des résidus mannose : séquence signal de phosphorylation,
- une deuxième enzyme, la N-acétyl-glucosamine phospho-glucosidase libère le GlcNac (*Schéma 12*.

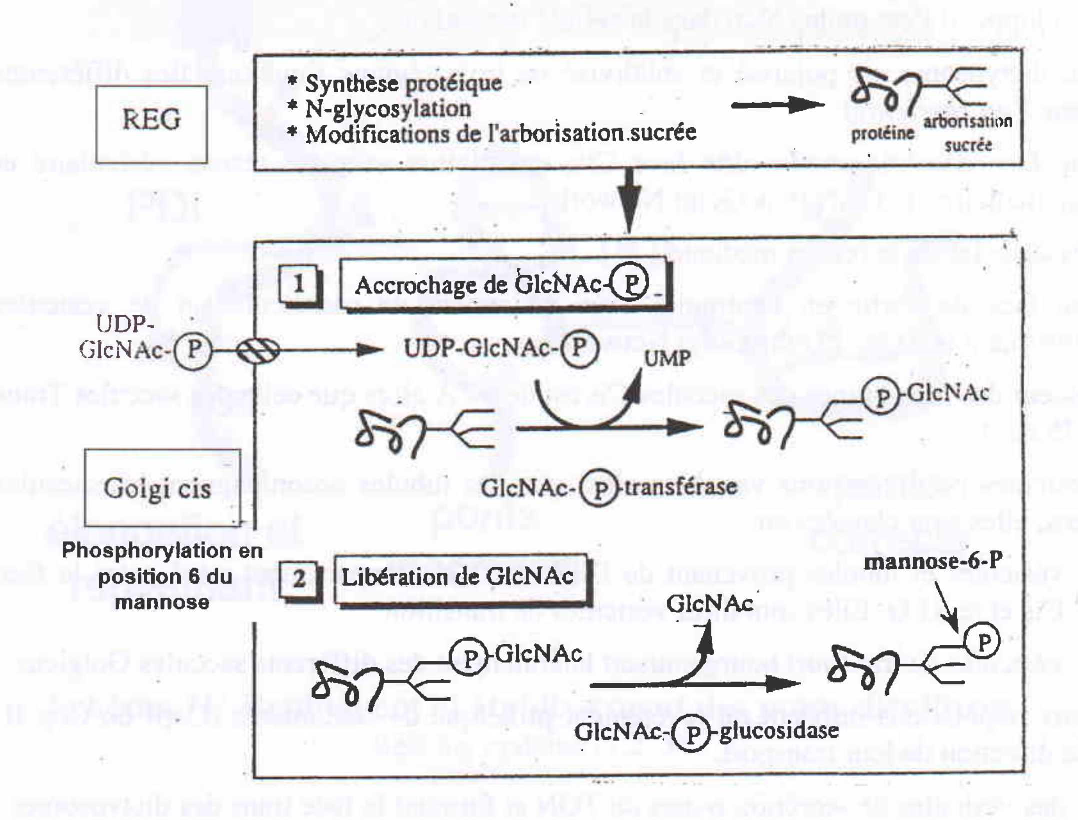


Schéma12: Processus de phosphorylation des futures hydrolases acides

- par la suite les enzymes porteurs de mannose-6-Phosphate sont transportés jusqu'au Golgi Trans où ils sont reconnus par une glycoprotéine transmembranaire: le récepteur du mannose-6-P (M6P),
- les enzymes hydrolytiques fixées à leurs récepteurs bourgeonnant du TGN sont adressées au compartiment endosomal ou aux vacuoles digestives *(Schéma 13)*.

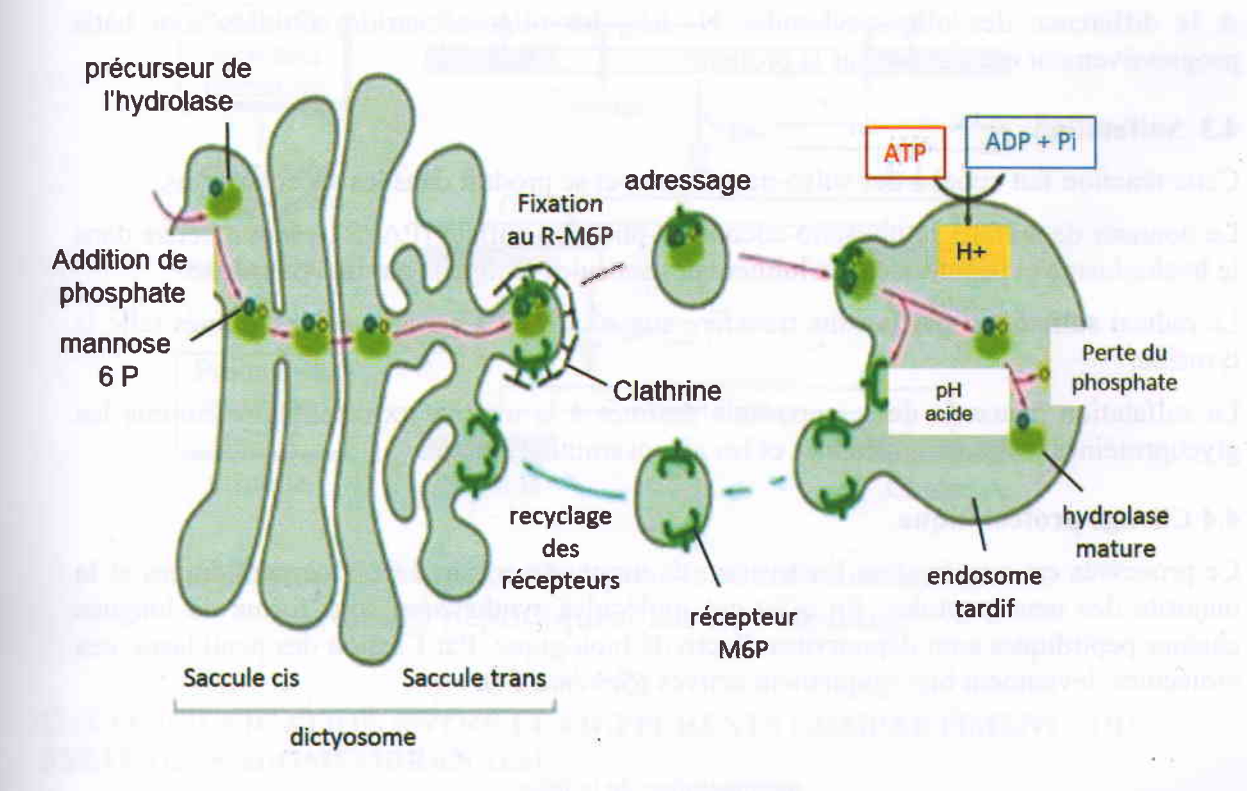


Schéma 13: Adressage des hydrolases acides à l'endosome

4. 2 O-Glycosylation

Elle a lieu dans les saccules médians et trans du Golgi et se déroule comme suit :

- les sucres (galactose, NANA….), synthétisés dans le hyaloplasme sont complexés un à un à des nucléotides comme l'UDP (Uridine Di Phosphate),
- les complexes nucléotide –sucre pénétrent dans la lumière du saccule via une perméase antiport,
- une déphosphorylation de l'UDP en UMP sous l'action d'un nucléoside di phosphatase (marqueur des saccules trans) a lieu,

- une O-glycosyl transférase accroche le galactose sur l'oxygène porté par l'acide aminé sérine ou thréonine de la protéine. Ceci correspond à une maturation de la protéine N-glycosylée ***(Schéma 9 du fascicule).***

Comme la N- glycosylation, la O- glycosylation concerne aussi bien les protéines solubles que les protéines transmembranaires sur leur domaine luminal.

A la différence des oligosaccharides N- liés, les oligosaccharides O- liés sont bâtis progressivement ose par ose sur la protéine.

4.3 Sulfatation

Cette réaction fait appel à des sulfo-transférases et se produit dans les saccules trans.

Le donneur de sulfate, le phospho-adénosine-phospho-sulfate (PAPS), est synthétisé dans le hyaloplasme et pénètre dans la lumière des saccules Golgiens par une perméase.

Le radical sulfaté, est par la suite transféré aux sucres ou à certains acides aminés telle la tyrosine.

La sulfatation concerne des composants destinés à la matrice extracellulaire comme les glycoprotéines les protéoglycannes et les glycosaminoglycannes.

4.4 Clivage protéolytique

Ce processus est nécessaire à l'activation de nombreuses hormones polypeptidiques et la majorité des neuropeptides. En effet ces molécules synthétisées sous forme de longues chaînes peptidiques sont dépourvues d'activité biologique. Par l'action des peptidases, ces molécules deviennent biologiquement actives ***(Schéma 14).***

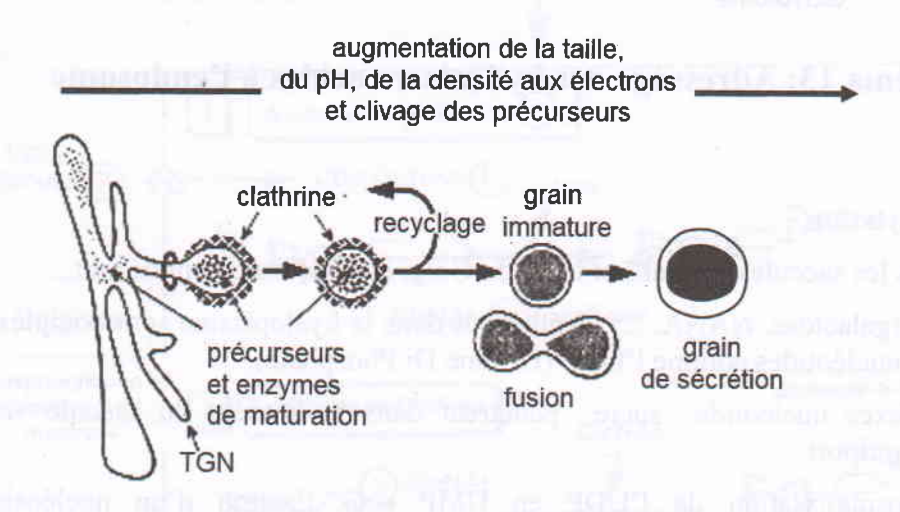


Schéma 14: Maturation des produits destinés à l'exocytose régulée

Ex : Dans le pancréas endocrine la maturation de la pro insuline en insuline est initiée dans le trans Golgi et se poursuit dans les grains de sécrétion *(Schéma 15).*

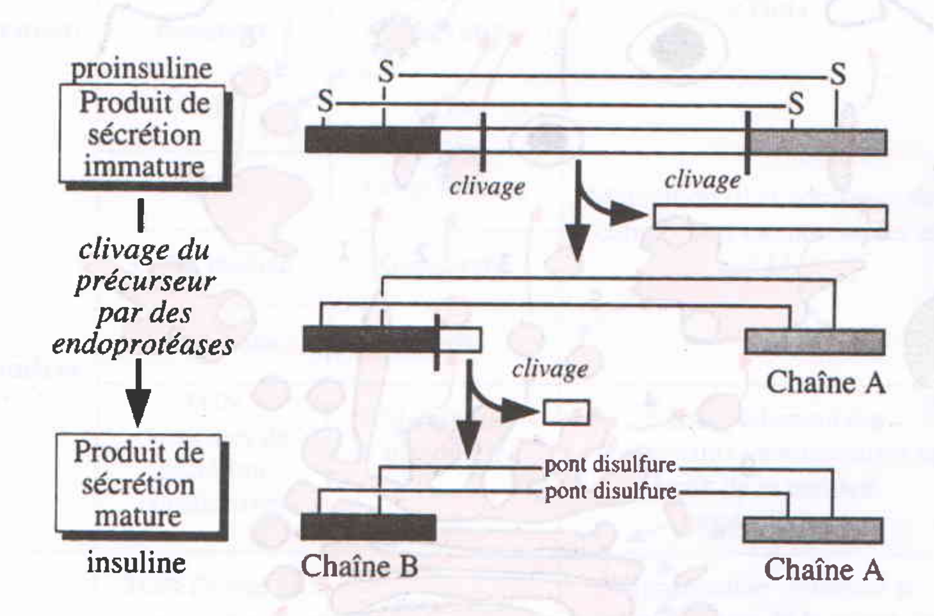


Schéma 15: Modification post traductionnelle des hormones peptidiques: cas de l'Insuline

C / COMMUNICATION ENTRE LES DIFFERENTS COMPARTIMENTS DU SYSTEME ENDOMEMBRANAIRE

Le transport des macromolécules entre les différents compartiments du SEM (le RE, les saccules Golgiens, l'endosome et les vacuoles autophagiques ou phagosomes (des cellules phagocytaires) repose sur un flux bidirectionnel de vésicules ***(Schéma 16 et Tableau IV)***.

Celui de la voie de l'exocytose (biosynthèse – sécrétion - excrétion) est nommée flux membranaire vectoriel permanent centrifuge.

Celui de l'endocytose (nutritive, de signalisation ou d'infection) est nommé flux membranaire centripète.

Au cours de ce trafic, les vésicules issues des différents compartiments du RE, des saccules Golgiens ou de la membrane plasmique sont recouvertes d'un manteau protéique d'origine cytosolique. Celui-ci conduit localement à la déformation mécanique des membranes vésiculaires conduisant à leur détachement du compartiment donneur et leur adressage aux compartiments receveurs.

La perte de ce revêtement est souvent nécessaire pour la reconnaissance et la fusion membranaire.

Trois types de revêtements ont été étudiés chez les cellules Eucaryotes : revêtement de clathrine, de coatomères, et de cavéoline ***(Schéma 16)***.

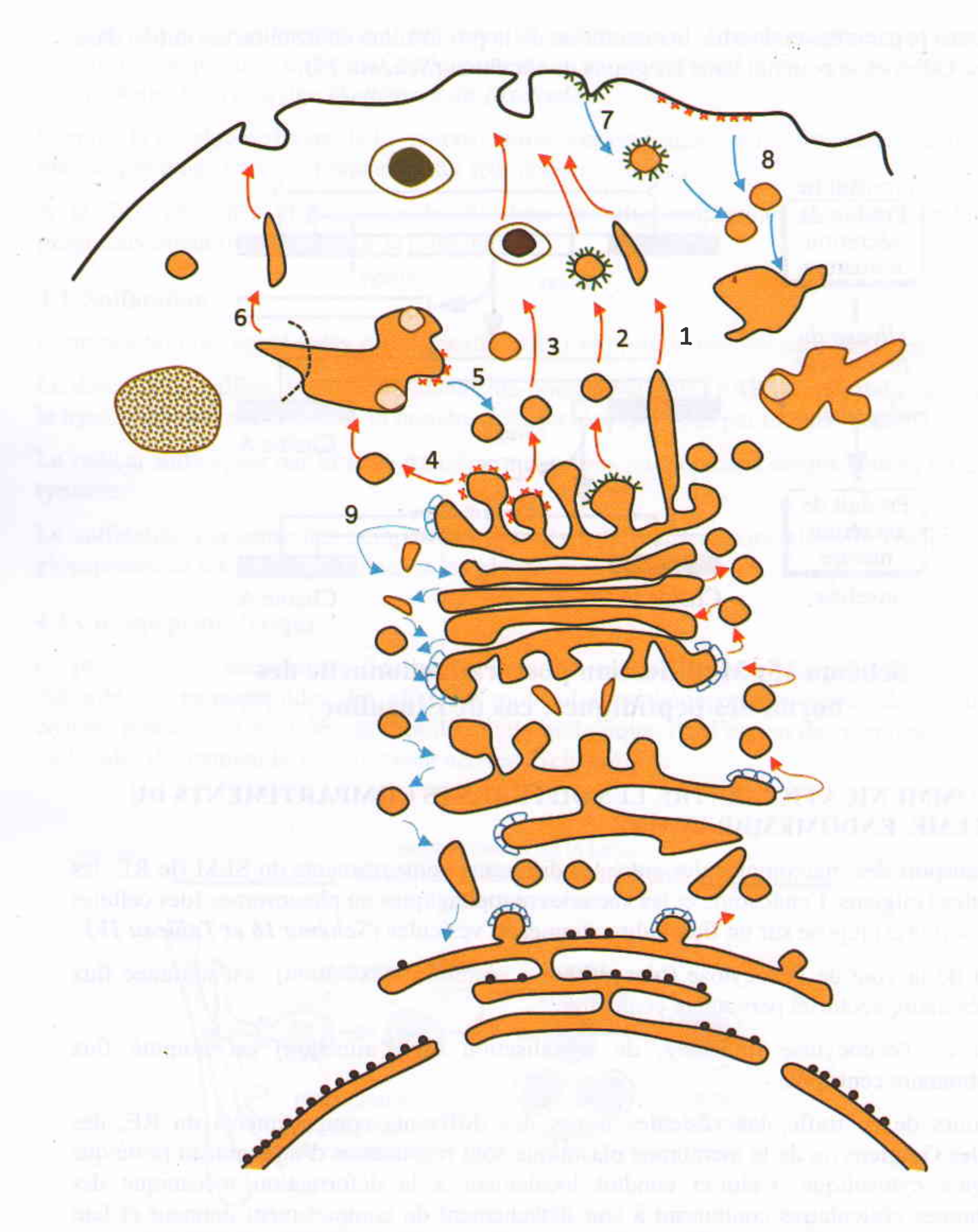


Schéma16: Représentation des interactions fonctionnelles entre les compartiments du système endomembranaire

1 et 2: endocytose constitutive, 3 exocytose régulée, 4, adressage des vésicules à hydrolases, 5: recyclage des R-M6P, 6: recyclage des récepteurs membranaires, 7: endocytose cavéoline dépendante, 8: endocytose clathrine dépendante, 9: flux de retour.

Tableau IV : FLUX MEMBRANAIRES BIDIRECTIONNELS

Type de revêtement	Compartiment donneur	Compartiment receveur	Effets	Type de flux
Coatomères	RE	CGN	Maturation tri et adressage des composants membranaires et solubles	**centrifuge**
	CGN	Golgi médian		
	Golgi médian	Golgi trans		
	Golgi trans	TGN		
	TGN (vésicules de sécrétion constitutive)	Membrane plasmique	Renouvellement des composants membranaires et ceux de la matrice extracellulaire	
Clathrine	TGN (Vésicule de sécrétion régulée)	Membrane plasmique	Signalisation cellulaire et renouvellement de la membrane plasmique	
	TGN (Vésicule à hydrolases)	Endosome	Dégradation du contenu (évolution en lysosome)	**centripète**
		Vacuole autophagique		
		Vacuole hétérophagique		
	Membrane plasmique	endosome	Endocytose dépendante de la clathrine + (voie d'infection bactérienne : toxine tétanique)	
	Endosome	Golgi	Recyclage des R- mannose 6- P	
Cavéoline	Membrane plasmique	cavéosome / endosome	Endocytose clavéoline dépendante	
	TGN	Membrane plasmique	Renouvellement des microdomaines (radeaux)	**centrifuge**

Quel que soit le flux emprunté, les transports entre deux compartiments nécessitent trois étapes successives:

- la formation d'un bourgeon au niveau du compartiment donneur,
- la formation d'une vésicule par pincement du bourgeon. Ceci permet d'isoler une fraction luminale du compartiment donneur ainsi que ses composants membranaires,
- l'accostage (arrimage) de la vésicule au compartiment accepteur avec lequel elle fusionne.

La fusion fait intervenir des protéines membranaires dites V-SNAREs qui reconnaissent leurs récepteurs protéiques spécifiques dits T-SNAREs localisés dans les membranes du compartiment receveur La vésicule déverse alors son contenu dans le compartiment accepteur et sa membrane sera intégrée à ce dernier (***Schéma 17 et schéma 11 du fascicule***).

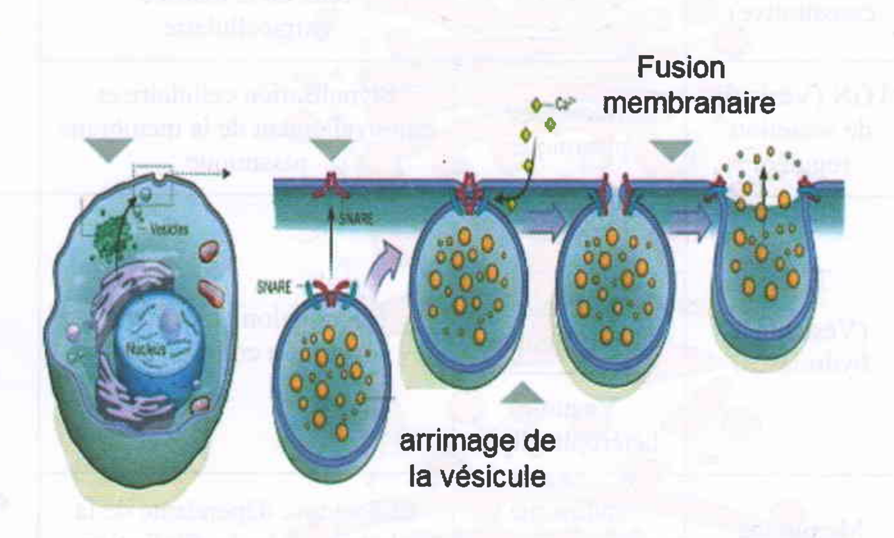


Schéma 17: Interactions moléculaires entre compartiment donneur et compartiment receveur

LE NOYAU INTERPHASIQUE ET LE CYCLE CELLULAIRE

A/ LE NOYAU INTERPHASIQUE

GENERALITES

Chez les organismes eucaryotes, le noyau est le compartiment cellulaire, qui renferme le matériel génétique (ADN) de la cellule et contrôle l'ensemble de ses activités. A l'interphase, il apparaît comme une masse fortement colorable.

Chez les mammifères, le noyau est présent dans tous les types cellulaires à l'exception des hématies et des kératinocytes.

Les cellules renferment habituellement un seul noyau mais il existe des exceptions c'est le cas des cellules binucléés du foie et plurinucléées du muscle.

Globalement le noyau adapte sa forme à celle de la cellule qui le porte. Elle serait également liée à l'activité cellulaire.

La position du noyau dans la cellule est également variable, elle dépend de l'état embryonnaire ou différencié de la cellule et de l'importance des réserves élaborées ; ainsi il peut être central dans les cellules embryonnaires, basal dans les cellules exocrines, et périphérique dans les adipocytes.

La taille du noyau est comprise entre 10 et 20 µm. Elle est fonction de la quantité de chromatine.

Le volume nucléaire est fixe pour un même type cellulaire mais varie d'un type à un autre. Ainsi on définit le rapport nucléo-cytoplasmique (RNP) exprimé de la manière suivante :

RNP = volume nucléaire (Vn) / volume cytoplasmique (Vc).

Ce rapport est élevé dans les cellules souches et les cellules jeunes ; il est faible dans les cellules différenciées adultes. Le RNP spécifique de l'espèce est atteint au stade blastula et diminue au cours du vieillissement.

L'ensemble de ces critères sont utilisés pour le diagnostic des cellules tumorales (***Schéma 1 du fascicule***).

Le noyau est composé de l'extérieur vers l'intérieur de l'enveloppe nucléaire et d'un nucléoplasme où baignent la chromatine et le(s) nucléole(s). Ces structures sont révélées en microscopie sur coupes minces et après cryodécapage ***(Planche XI).***

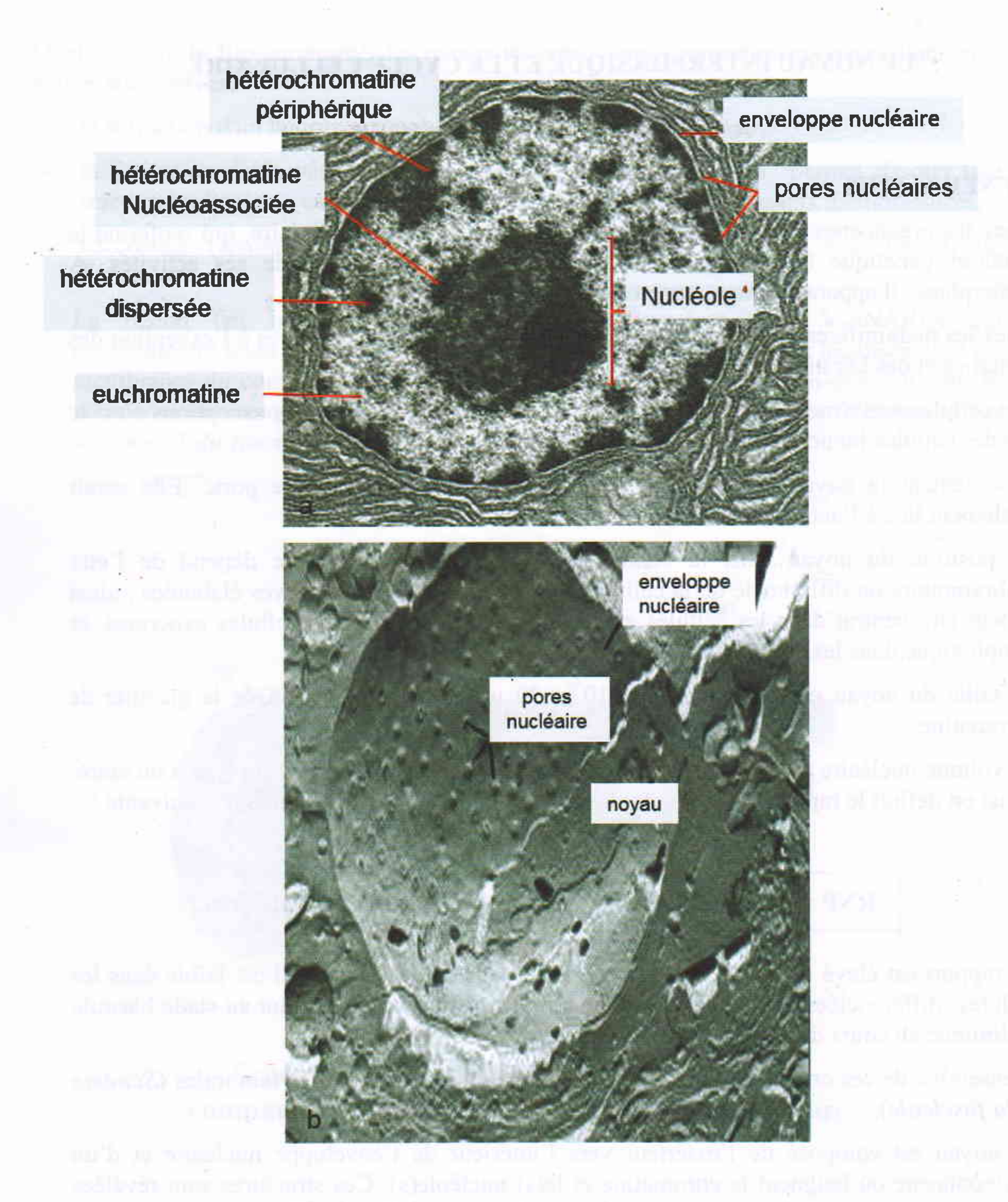


Planche XI: Micrographies montrant l'aspect du noyau
Composantes ultrastructurales après coupes minces (a) et révélation des pores nucléaires après cryodécapage (b)

1. L'ENVELOPPE NUCLEAIRE

C'est un ensemble membranaire complexe caractéristique des cellules eucaryotes qui sépare la chromatine du cytoplasme durant l'interphase et qui contrôle les échanges entre le noyau et le cytoplasme.

1.1 Ultrastructure

Observée sur coupes minces, après coloration positive, l'enveloppe nucléaire apparaît formée de deux membranes tristratifiées de 75Å d'épaisseur chacune et séparées par un espace périnucléaire large de 200 à 400 Å.

La membrane interne fait face au nucléoplasme, elle est tapissée intérieurement par la lamina.

La lamina est un réseau protéique formé de lamines A B et C qui permettent la fixation de la chromatine.

La membrane externe est garnie, sur sa face hyaloplasmique de ribosomes. Elle est en continuité avec le réticulum endoplasmique.

L'enveloppe nucléaire est percée par des pores nucléaires résultant de la fusion des deux membranes de l'enveloppe. Le nombre de pores nucléaires est proportionnel à l'activité de la cellule.

La coloration négative révèle que le pore est une structure complexe dont le modèle d'organisation actuellement retenu est représenté sur le ***schéma 18.***

1.2 Composition chimique

Analyse chimique

L'enveloppe nucléaire est formée de 30% de lipides et 70% de protéines.

La membrane externe contient une glucose 6 phosphatase, deux chaînes de transporteurs d'électrons : les cytochromes b_5 et P_{450}, des pompes Ca^{++} ainsi que les molécules impliquées dans la translocation des protéines tel que le récepteur à la SRP et le complexe du translocon.

La membrane interne présente une structure voisine de celle de la membrane externe cependant ses activités enzymatiques sont moins importantes. Elle est caractérisée par la présence de protéines transmembranaires jouant le rôle de récepteurs aux lamines A, B et C et de canaux calciques IP_3 dépendants libérant le Ca^{++} dans le nucléoplasme. Le Ca^{++} étant préalablement stocké dans l'espace périnucléaire.

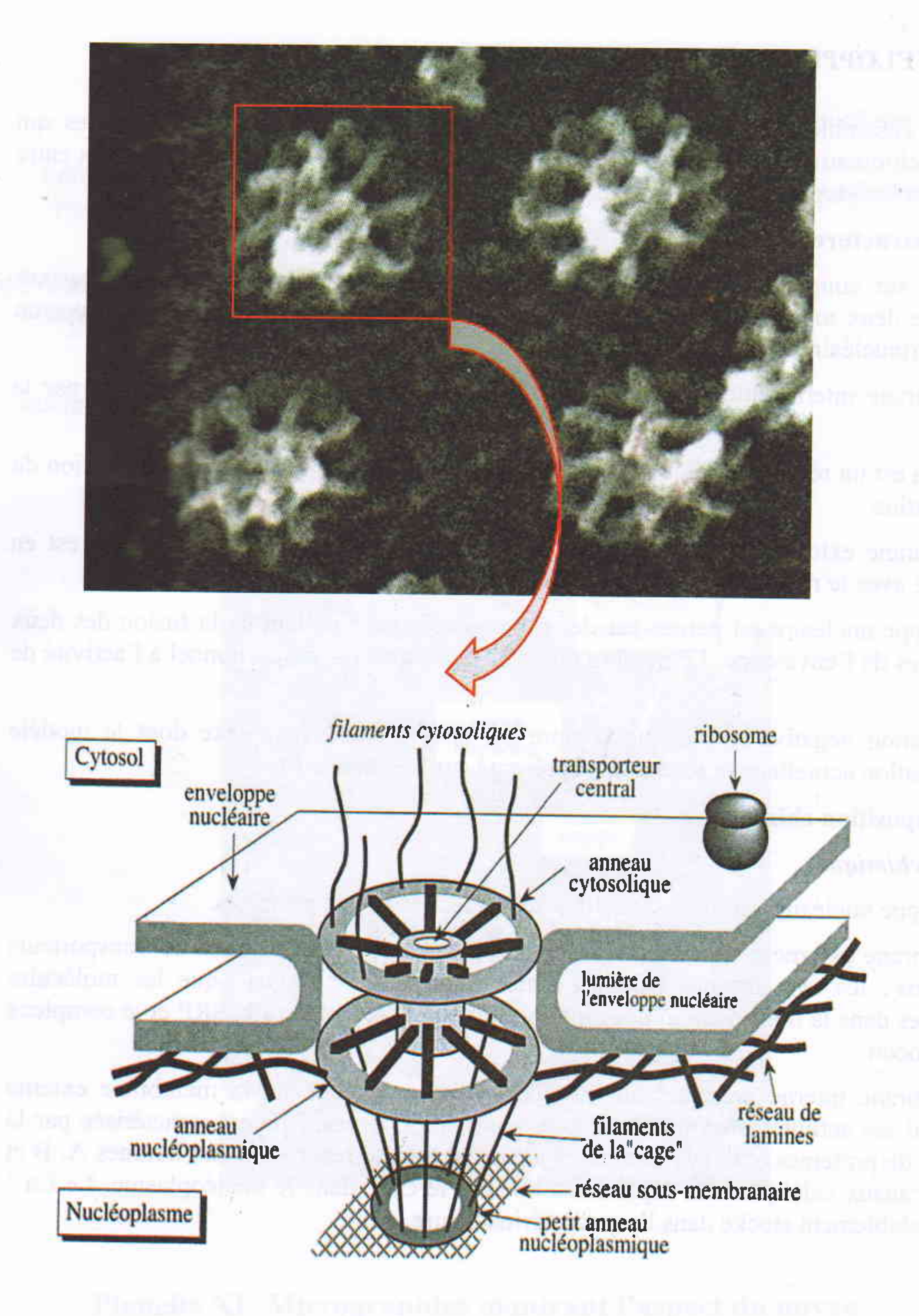


Schéma 18: Organisation moléculaire du complexe du pore

Pores nucléaires après coloration négative (*haut*) et
représentation schématique de son organisation (*bas*)

Les deux membranes de l'enveloppe nucléaire sont asymétriques : les chaînes glucidiques des glycoprotéines et des glycolipides sont dirigées vers la face luminale.

L'espace intermembranaire (périnucléaire) montre la même composition que les cavités du réticulum endoplasmique : c'est le lieu de stockage du Ca^{++}.

Le pore nucléaire est un complexe protéique organisé en un anneau cytoplasmique, un anneau nucléoplasmique de 120 nm de diamètre, chacun délimitant un canal central de 30 nm de diamètre. Les anneaux sont reliés chacun au canal par 8 fibres radiaires délimitant des canaux latéraux. Un troisième anneau est situé dans le nucléoplasme *(Schéma 19)*.

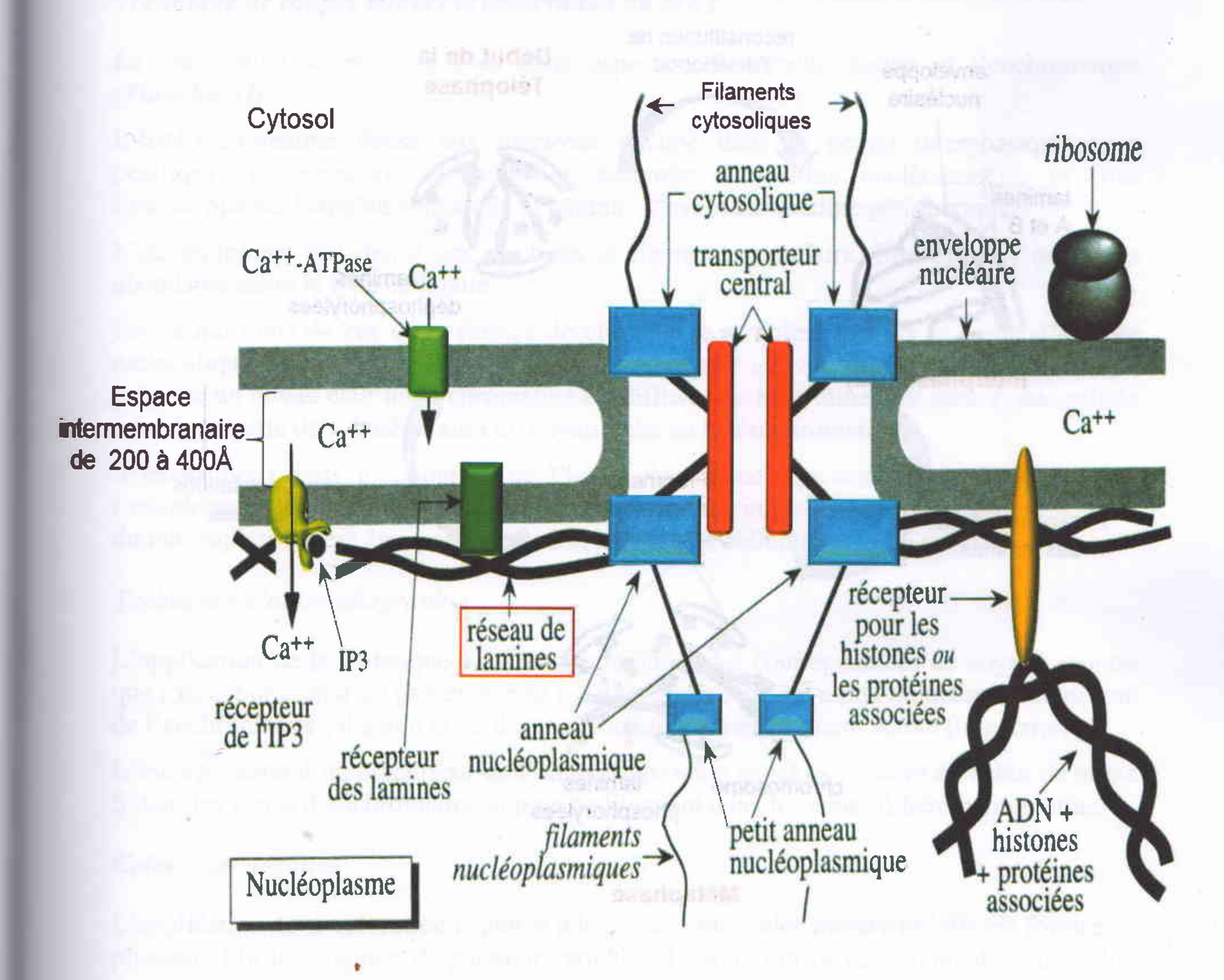


Schéma 19: Composants moléculaires de l'enveloppe nucléaire

1-5 Biogenèse

A la fin de l'interphase, les lamines sont phosphorylées et perdent leur affinité pour leurs récepteurs provoquant un désassemblage du réseau laminaire. L'enveloppe se dissocie alors en petites vésicules. A la télophase, les lamines sont déphosphorylées et peuvent s'assembler à nouveau ce qui permet la reconstitution de l'enveloppe *(Schéma 20)*.

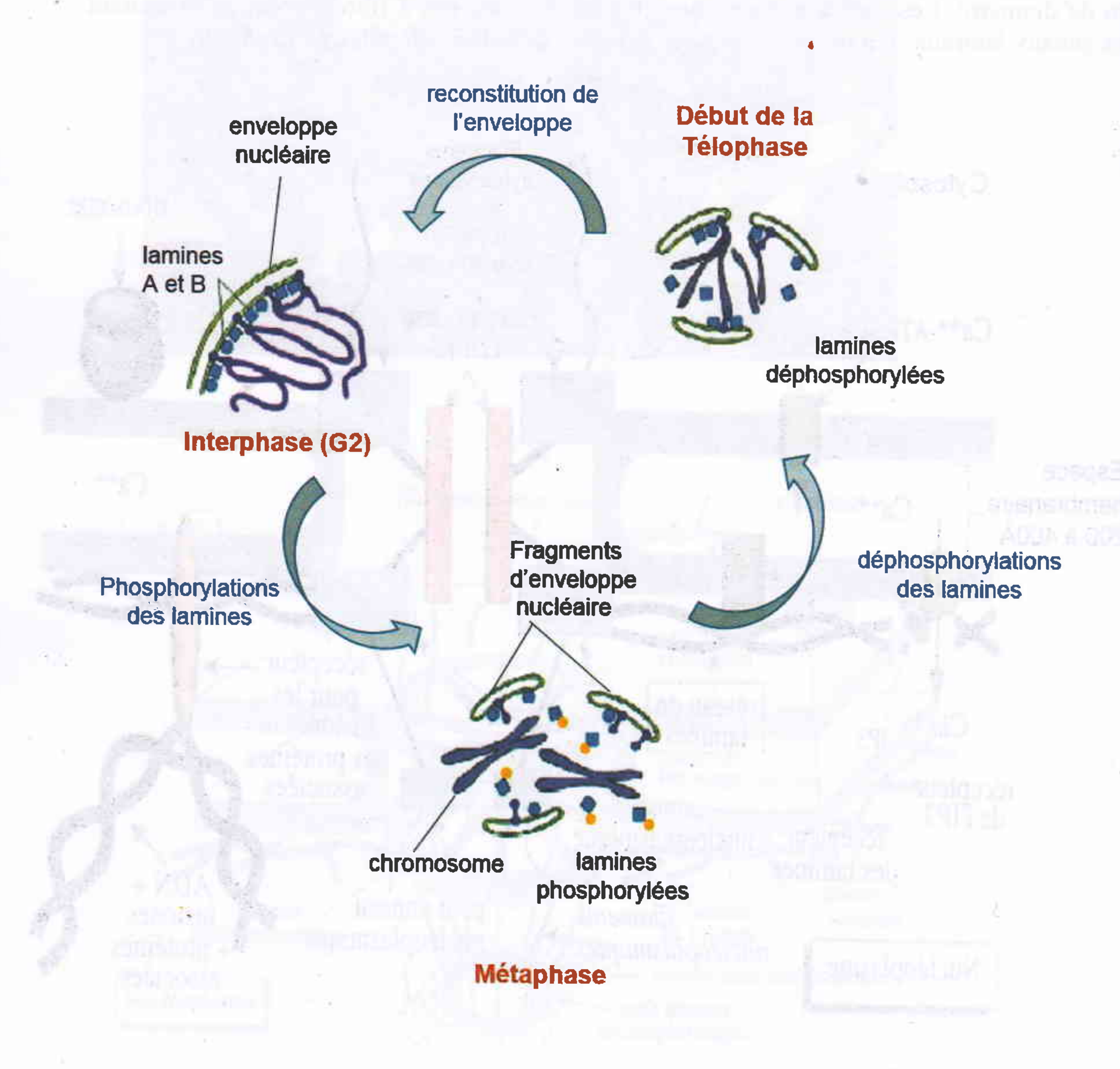


Schéma 20: Biogenèse de l'enveloppe nucléaire

3. LA CHROMATINE

La chromatine est le support de l'information génétique ; elle constitue la forme interphasique des chromosomes.

3.1 Ultrastructure

Plusieurs techniques d'étude de la chromatine ont été utilisées. Les principaux résultats observés après l'application de ces techniques sont résumés dans le **tableau V.**

Technique de coupes minces et observation au MET

La chromatine se présente sous deux aspects : l'hétérochromatine et l'euchromatine ***(Planche XI).***

L'hétérochromatine dense aux électrons occupe dans le noyau interphasique deux positions : la périphérie du nucléole, nommée chromatine nucléoassociée et sous l'enveloppe nucléaire au contact de la lamina : c'est la chromatine périphérique.

L'euchromatine peu dense aux électrons et finement granulaire. Elle est plus ou moins abondante selon le type cellulaire.

Les proportions de ces deux formes de chromatine semblent refléter le degré d'activité métabolique de la cellule. Une cellule qui assure une activité protéosynthétique intense présente un noyau clair où la chromatine est diffuse (euchromatine) par contre, une cellule à faible activité de synthèse, aura un noyau riche en hétérochromatine.

Il existe deux états fonctionnels de l'hétérochromatine : la constitutive localisée sous l'enveloppe et autour du nucléole n'est jamais transcrite; la facultative occupant le reste du nucléoplasme peut être transcrite selon les besoins cellulaires.

Technique d'autoradiographie

L'application de la technique d'autoradiographie à des coupes minces de noyaux montre que l'incorporation d'un précurseur de l'ARN (uridine tritiée) a lieu uniquement au niveau de l'euchromatine ; il s'agit donc d'une chromatine génétiquement active (transcription).

L'incorporation d'un précurseur de l'ADN (thymidine tritiée) s'observe en début de phase S dans les zones d'euchromatine et plus tardivement dans les zones d'hétérochromatine.

Coloration négative

L'application de la coloration négative à la chromatine étalée montre qu'elle est formée de plusieurs fibrilles longues d'épaisseur variables. Chaque fibrille est semblable à un collier de perles où chaque perle est un nucléosome de 10 à 11 nm de diamètre constituant la structure de base de la chromatine ou fibre A. D'autres fibrilles apparaissent plus épaisses mesurant 25 à 30 nm de diamètre : fibre B.

Tableau V : SYNTHESE DES RESULTATS OBSERVES APRES APPLICATION DES TECHNIQUES MICROSCOPIQUES ET LEUR INTERPRETATION PHYSIOLOGIQUE.

Techniques	Aspects au MET	Interprétations : activités métaboliques
Coupe mince et coloration positive	Hétérochromatine très dense aux e^- et abondante dans les cellules peu actives. Sa distribution est comme suit : périphérique : au contact de la Lamina et nucléoassociée: en périphérie du nucléole	Hétérochromatine périphérique et nucléoassociée ne sont pas transcrites ; elles constituent l'hétérochromatine constitutive
	Hétérochtromatine dispersée dans le nucléoplasme	Hétérochromatine dispersée peut être transcrite : elle est dite facultative
	Euchromatine finement granulaire ,peu dense aux e^- et abondante dans les cellules actives. Elle occupe le reste du nucléoplasme où l'hétérochromatine n'est pas présente.	Assure une synthèse protéique intense après transcription
Autoradiographie	Marquage à l'uridine marquée (précurseur de l'ARN) : localisation du marquage (grains d'argent) seulement dans l'euchromatine	Euchromatine est génétiquement active : capable de transcription.
	Marquage à la thymidine marquée (précurseur de l'ADN): localisation du marquage d'abord dans Euchromatine (début de phase S) puis tardivement (fin de phase S) dans l'hétérochromatine.	Euchromatine est à réplication précoc Hétérochromatine est à réplication tardive
Coloration négative	Aspect de la chromatine sous forme de fibrilles d'épaisseur et d'aspect variables : -fibres de 10 à 11nm de Ø nommée également fibre A, en collier de perles, nucléosomique, relâchée, en zig zag -fibres de 20 à 30 nm de Ø nommée également fibre B ou épaisse.	Fibre A : successions de nucléosomes composés chacun de H_1 + 8Histones+ ¾ tours d'ADN et de liens internucléosomiques d'ADN. Fibre B : correspond à une compaction de la fibre A (sous l'action des protéines non histones) en modèle solénoïde
Conclusions	La chromatine est composée de Fibre A ou Euchromatine génétiquement active capable de réplication précoce (si la cellule n'est pas différenciée) et de transcription selon les besoins cellulaires. Elle est également constituée de Fibre B ; celle-ci représente les 3 différentes hétérochromatines dont l'une est génétiquement active correspondant à l'hétérochromatine dispersée ou facultative et deux variétés de chromatine génétiquement inactives correspondantes aux hétérochromatines périphérique et nucléoassociée ; il s'agit d'une hétérochromatine constitutive. L'hétérochromatine constitutive et facultative présentent en commun une capacité de réplication.	

3.2 Composition chimique et organisation moléculaire

Technique d'isolement

Après isolement des noyaux, on procède à leur éclatement dans une solution hypotonique. Après centrifugation un culot de chromatine est obtenu.

Analyse biochimique

La chromatine est formée de 30% d'ADN (voir cours de génétique), 5% d'ARN en cours de transcription et de protéines histones et protéines non histones importées du hyaloplasme.

Organisation moléculaire

Dans la fibre A chaque nucléosome est formée d'un cœur d'histones : 2 $H2_a$ + $2H2_b$ + 2H3 + 2 H_4 autour duquel s'enroule l'hélice d'ADN en 1 tour et ¾ (142 paires de base) : c'est le lien internucléosomique.

L'histone H_1 permet le verrouillage des nucléosome. L'association des nucléosomes entre eux. En son absence la fibre nucléosomique est relâchée (forme en zigzag ou fibre A) ; avec H_1 la fibre A se condense en fibre B.

3.3 Rôles

La chromatine est le support de l'information génétique. Sa transcription donne les différents ARN (ARNt, ARNm, ARNr et autres petits ARN) dont dépendent tous les métabolismes cellulaires. Par cette fonction elle détermine la différenciation cellulaire.

Sa réplication au cours de la phase S du cycle cellulaire sous tend les phénomènes de prolifération cellulaire.

3.4 Biogenèse

La chromatine est la forme interphasique des chromosomes. Sa réapparition à la télophase est due à une décondensation maximale des chromosomes en fibres nucléosomiques. Les chromosomes deviennent distincts seulement lorsqu'ils se condensent et s'épaississent au cours de la prophase.

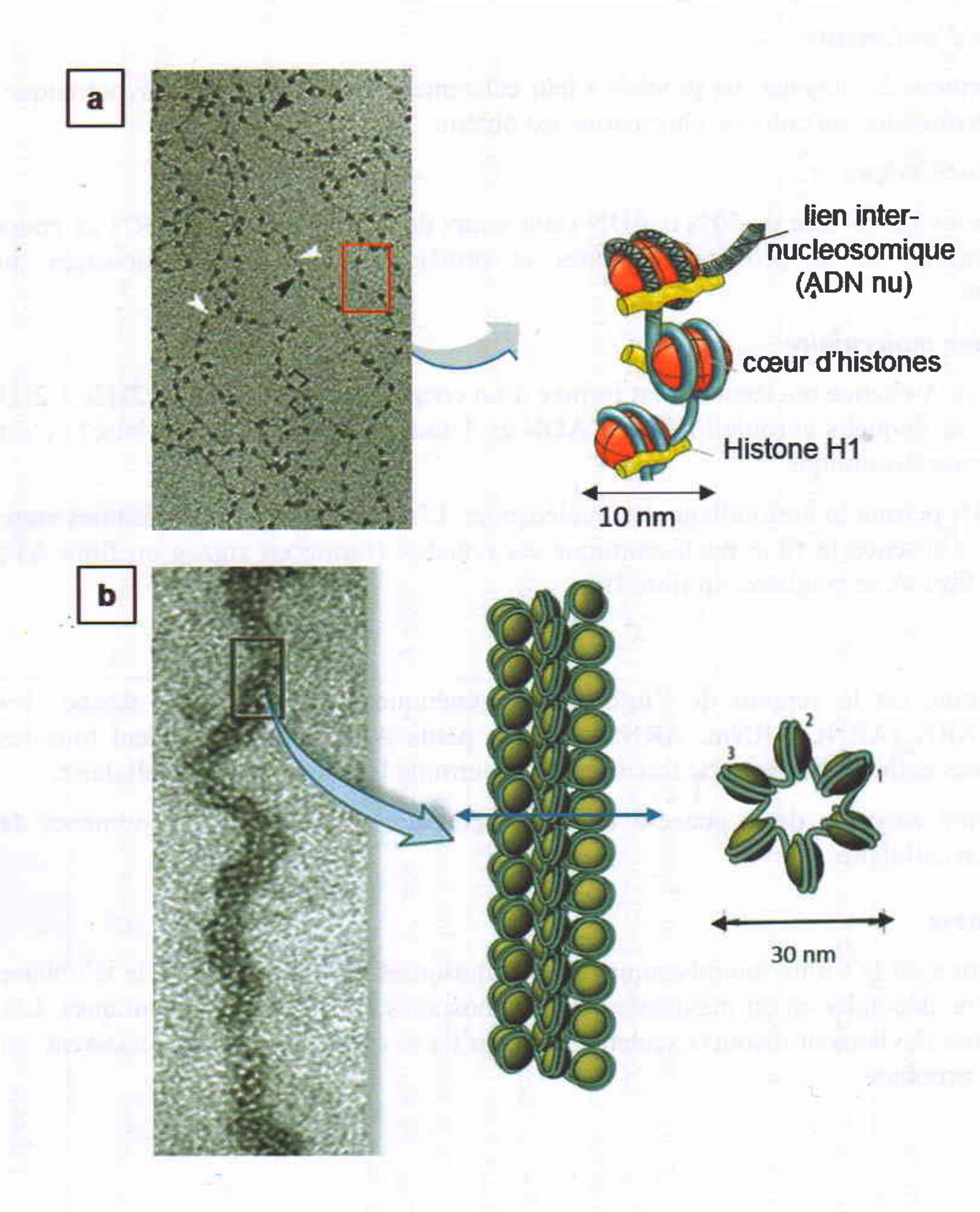


Planche XII : Organisation moléculaire des fibres chromatiniennes

Micrographie après coloration négative et représentation schématique des composants de la fibre A (a); Micrographie de fibre B après coloration négative et représentation schématique de l'organisation en solénoïde (b)

4. LE NUCLEOLE

C'est une masse sphéroïde mesurant 1à 7 µm de diamètre. Il est visible à l'intérieur du noyau interphasique et disparaît au cours de la division. Généralement il n'y a qu'un nucléole par noyau mais le nombre, la taille et la morphologie du nucléole varient en fonction de la synthèse protéique dans une cellule. Des anomalies de ces critères morphologiques sont utilisées pour le diagnostic du cancer.

Le nucléole est le lieu de synthèse des sous unités ribosomales.

4.1 Ultrastructure et composition chimique

Examiné au MET, le nucléole montre des compartiments qui exprimant son activité métabolique.

Le(s) centre(s) fibrillaire(s) (CF) : il existe en un ou plusieurs exemplaires par nucléole, selon le type cellulaire. Il est peu dense aux électrons.

Il est formé de fibrilles d'ADN appelé ADN de l'organisateur nucléolaire (ADNr) codant pour les ARN ribosomiques (ARNr).

Le composant fibrillaire dense (CFD) : apparaît plus dense aux électrons que le CF et l'entoure, il correspond aux différents ARNr nouvellement transcrits (ARNr précurseur ou ARN 45s) ainsi que les enzymes de transcription (ARN polymérase).

Le composant granulaire (CG): d'aspect granulaire il est peu dense aux électrons. A son niveau sont stoquées des particules préribosomiques formées d'ARNr en cours de maturation, des protéines ribosomales et des protéines enzymatiques (ARNase) importées du hyaloplasme.

La chromatine nucléoassciée : elle entoure presque totalement le nucléole d'où le nom de chromatine périnucléolaire. Elle est formée de fibrilles de 25nm correspondant à l'ADN des chromosomes acrocentriques.

4.2 Rôles

La mise en évidence de l'implication du nucléole dans la formation des sous unités ribosomales s'appuie sur une expérience réalisée sur deux souches de *Xenopus laevis* l'une normale renfermant 2 nucléoles l'autre mutante dépourvue de nucléole.

Les hybrides homozygotes sont dépourvus de nucléole et meurent au stade larvaire. L'analyse par la technique d'autoradiographie à l'uridine tritiée montre qu'il n'y a pas d'ARNr et pas de synthèse protéique ce qui explique la mort des larves.

Les gènes codant pour les ARNr sont portés par 5 paires de chromosomes acrocentriques représentés chez l'homme par les chromosomes des paires 13, 14,15, 21 et 22.

Ces gènes sont situés au niveau de leurs constrictions II^{res}. Ils sont hautement répétitifs (20 copies/chromosome). Chaque gène comporte des séquences codantes et des séquences non codantes (espaceurs intergéniques) ***(Schéma 21).***

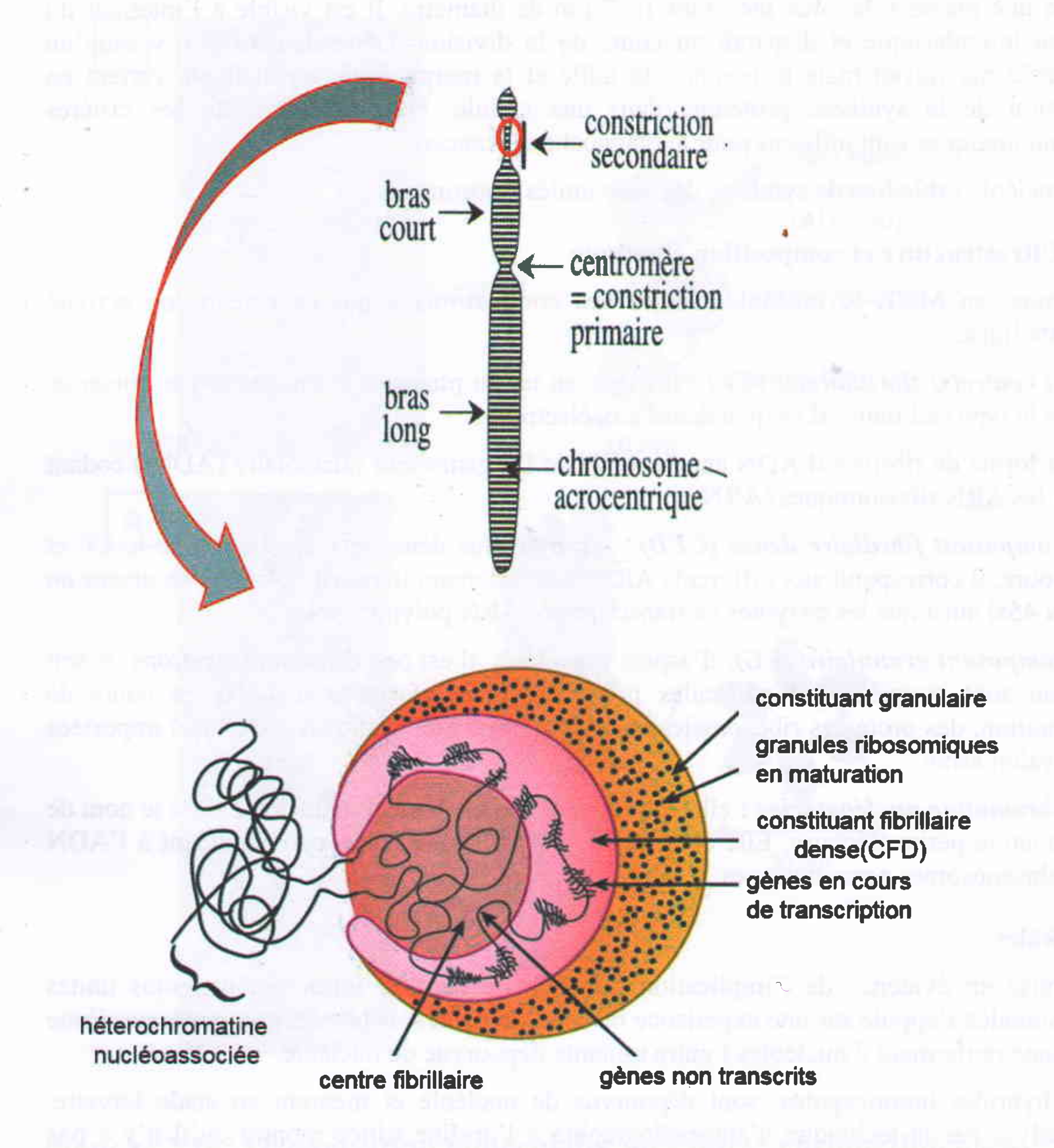


Schéma 21: Localisation de l'ADN nucléolaire et organisation fonctionnelle du nucléole

La biogenèse des sous unités ribosomales se fait en 3 grandes étapes (***Schéma 22 et Planche V du fascicule***) :

- Transcription des ADNr en ARN préribosomiques (ARN 45S) grâce à une ARN polymérase I. Cette transcription se déroule à la frontière entre le CF et le CFD. Les transcrits en cours d'élongation s'écartent perpendiculairement à l'ADNr donnant à chaque unité de transcription l'image de plume ou arbre de noël en ME.
- Maturation des ARN préribosomiques par clivage des ARN 45S en 3 fragments : ARN 18S, ARN 5,8S et ARN 25S sous l'action d'endonucléases dans le CG.
- Un ADNr extranucléolaire est transcrit grâce à une ARN polymérase III en ARN 5S puis importé dans le nucléole.
- Assemblage en sous unités ribosomales, ainsi les ARN 28S, 5,8S et 5S s'associent à 45 protéines ribosomiques L et forment la grosse sous-unité de 60S, alors que l'ARN18S s'associe à environ 30 protéinesS et constitue la petite sous unité de 40S.

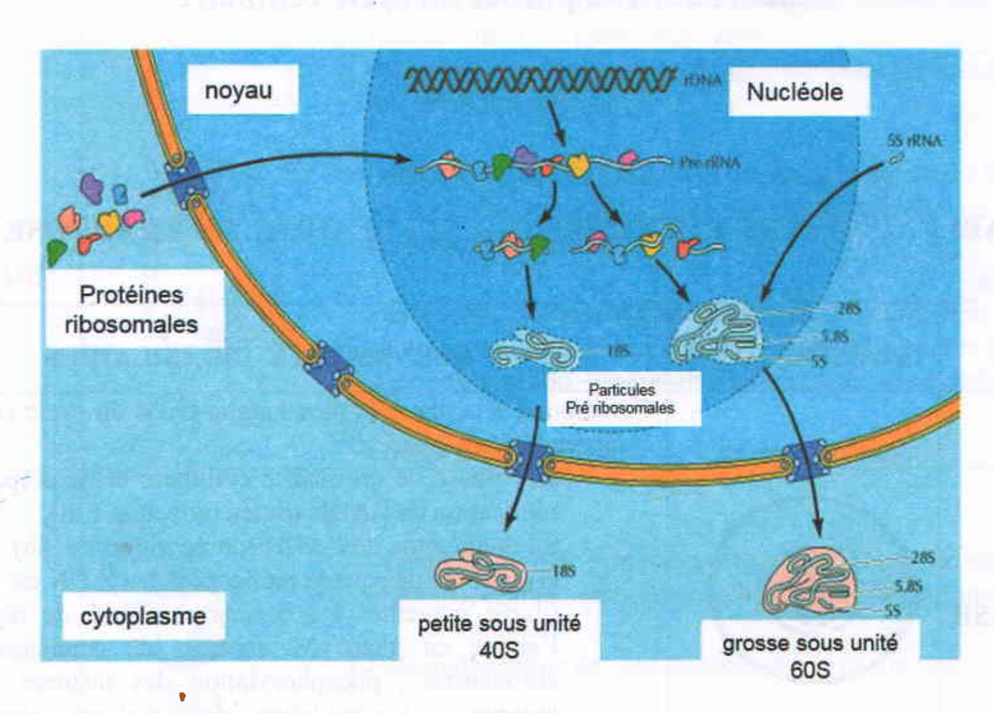


Schéma 22: Maturation et adressage des sous unités ribosomales.

B/ LE CYCLE CELLULAIRE

2. PHASES DU CYCLE CELLULAIRE

Le cycle cellulaire comporte deux grandes périodes : la mitose et l'interphase (***Schéma 23, Planche I du fascicule et Tableau VI***).

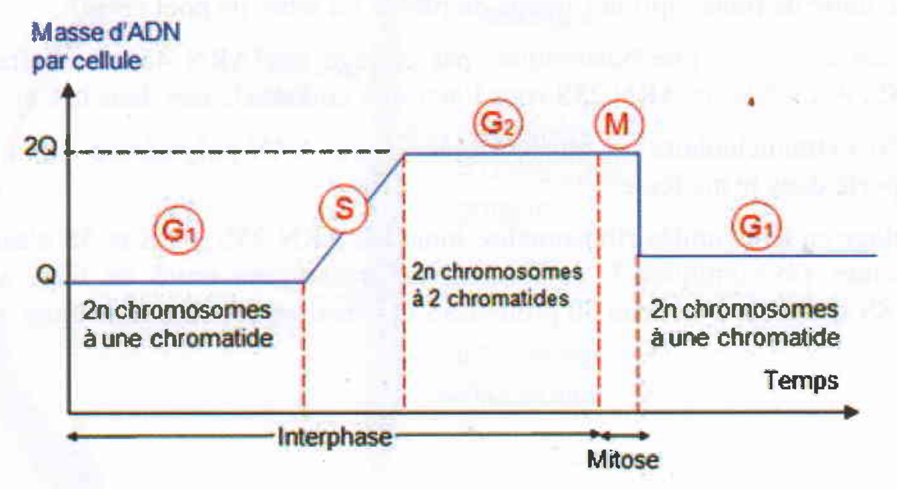


Schéma 23: Les phases du cycle cellulaire

TABLEAU VI : LES EVENEMENTS CELLULAIRES DE LA MITOSE

ETAPES	ILLUSTRATIONS	EVENEMENTS CELLULAIRES
INTERPHASE		Correspond à la phase la plus longue (90% du cycle cellulaire) et comprend 3 sous-phases: - G_1 : phase de croissance cellulaire et de préparation à la réplication de l'ADN (durée moyenne 12h), - S : duplication de l'ADN (durée moyenne 8h) - G_2 : débute dès que la réplication de l'ADN est achevée - (durée moyenne 4 à 5 heures), phase de régulation de l'entrée en phase M: facteurs de condensation de la chromatine ; phosphorylation des histones H_1 et des lamines ; accumulation des cyclines jusqu'au seuil déclencheur ; début de dédoublement du centrosome (***schéma* 7**)

PROPHASE		- vésiculisation progressive de l'enveloppe nucléaire (schéma) - éloignement et migration de chaque centrosome vers l'un pôle de la cellule - en parallèle mise en place progressive du fuseau entre les deux centrosomes -début de condensation de la chromatine laissant apparaître des structures en forme d'un X: les chromosomes
METAPHASE		- condensation maximale des chromosomes (possibilité de dénombrement chromosomique nécessaires pour l'établissement des caryotypes) -formation du fuseau de division - regroupement des chromosomes dans la région équatoriale formant une masse dense ou plaque équatoriale. - liaison des chromosomes par leur centromère à une fibre du fuseau reliant les deux centrosomes
ANAPHASE		- allongement du fuseau mitotique par polymérisation des microtubules polaires - partage équitable du lot chromosomique parental (ADN) entre les deux futures cellules filles par scission de chaque chromosome en deux chromatides - ascension de chaque chromatide par une fibre vers un des centrosomes situé à l'un des pôles de la cellule suite à la dépolymérisation progressive des microtubules kinétochoriens - début de mise en place de l'anneau contractile
TELOPHASE		- reconstitution de l'enveloppe nucléaire autour de chacun des lots chromosomique après déphosphorylation des lamines, - décondensation des chromosomes en chromatine, - réapparition des nucléoles, - partage des organites de la cellule mère entre les deux cellules filles, - étranglement de la cellule mère par cytodiérèse et séparation des cellules filles.

TESTS D'AUTOEVALUATION

QCS : Répondre par vrai ou faux. Une réponse fausse annule une réponse juste

1. L'ingestion de médicaments ou de stimulants modifie les propriétés du hyaloplasme
2. Dans le hyaloplasme se déroule l'échange GDP par du GTP lors de l'activation des monomères de tubuline α et β.
3. La cavéoline synthétisée par les polysomes liés interagit avec certaines molécules de la membrane plasmique.
4. Dans les cellules différenciées, les monomères de tubuline sont concentrés près du COMT.
5. Dans les cellules tumorales, la concentration de la tubuline dépolymérisée est prépondérante.
6. L'interaction actine–troponine est favorisée par les fortes concentrations en Ca^{++}.
7. Pendant la phase de translocation, les peptidases du signal agissent dès la reprise de la traduction.
8. Le recyclage de la SRP précède la reprise de la traduction de l'ARNm.
9. L'intervention des PDI succède à la N glycosylation.
10. Les glycosidases sont spécifiques aux saccules golgiens médians et trans.
11. La nucléoside diphosphatase assure le recyclage de l'UMP dans le cytosol.
12. D'origine luminale, le donneur de sulfate est fixé aux tyrosines de la protéine soluble.
13. La voie centripète endosome-membrane plasmique assure les recyclages des R-LDL.
14. L'adressage des N glycosyltransférases suit le flux centripète Cop II dépendant
15. Le revêtement CopI est utilisé lors des adressages centripètes à partir du TGN.
16. La biogénèse des sous unités ribosomales résulte de l'activité transcriptionnelle de l'ADNr.
17. Les nucléoïdes correspondent à de l'ADN libre indépendant du génome.

18. La fibre solénoïde et la fibre nucléosomique sont révélées par la technique de coloration négative.

19. La séparation des chromatides filles résulte de la dépolymérisation des microtubules kinétochoriens.

20. La densité des complexes nucléaires est constante au cours de la vie cellulaire.

21. Les nucléoporines synthétisées par les polysomes liés sont d'origine cytosolique.

22. Un complexe de pores assure une translocation active des ARN à coiffe 5'- NLS

23. L'activité chromatinienne peut être mise en évidence par l'utilisation des précurseurs de l'ADN fluorescent comme la thymidine et l'uridine.

24. L'architecture moléculaire de la chromatine nucléoassociée est toujours de type fibre A associée à des protéines non histones.

QCM : cocher la ou les réponses correctes. Une réponse incomplète vaut 0

1. Tout microtubule labile peut être concerné par :

a. une dynamique croissante de ses protofilaments

b. un système de régulation par la profiline ou la thymosine

c. un phénomène catastrophe par baisse d'ATP

d. une dépolymérisation continue de ses microfilaments

e. aucune des réponses n'est valable

2. Un bourgeon vésiculaire issu du TGN :

a. est revêtu de CopI lors du flux centripète

b. évolue en vésicule de transition

c. renferme des glycoprotéines sulfatées

d. interagit aux microtubules à l'aide de la dynéine

e. subit une hydrolyse lytique de son contenu

3. Une vésicule Golgienne peut :

a. constituer une voie de renouvellement des rafts

b. présenter un revêtement de clathrine

c. être dépourvue de contenu matriciel

d. être destinée à l'exportation constitutive

e. emprunter les flux centrifuge ou centripète

4. Une vésicule de sécrétion

a. renferme des prohormones et des protéases

b. est à contenu dense aux électrons

c. peut contenir des hydrolases acides

d. est libérée sous signal membranaire

e. emprunte un flux centripète

5. Une vésicule de transport :

a. est issue du réseau trans golgien

b. renferme des récepteurs M6P membranaires

c. évolue en vésicule à hydrolases

d. est destinés au REG.

e. circule dans la région sous membranaire

6. La coloration négative permet l'étude:

a. ultrastructurale de l'enveloppe nucléaire

b. morphologique des pseudopodes

c. ultrastructurale de l'euchromatine

d. de la répartition des protofilaments

e. l'architecture des microfilaments d'actine

7. Le rapport nucléo-cytoplasmique (RNP) permet:

a. le diagnostic des cellules tumorales

b. de déterminer l'âge des cellules

c. définir les composants nucléaires et cytoplasmiques

d. l'estimation des échanges nucléoplasmiques

e. de caractériser l'apoptose

8. Les membranes nucléaires peuvent assurer:

a. des fonctions identiques à celles des dictyosomes

b. des transports cytotiques

c. des échanges bidirectionnels de complexes protéiques

d. des importations actives de laminines

e. des importations et des exportations de différents ARN

9. Les microfilaments d'actine peuvent être impliqués dans :

a. la formation de l'anneau contractile de la cytodiérèse

b. la constitution d'un sarcomère

c. le transport des vésicules cavéoline dépendantes

d. l'élaboration d'un fuseau mitotique

e. les transports axonaux antérogrades et rétrogrades

10. Les caractéristiques d'un centriole sont :

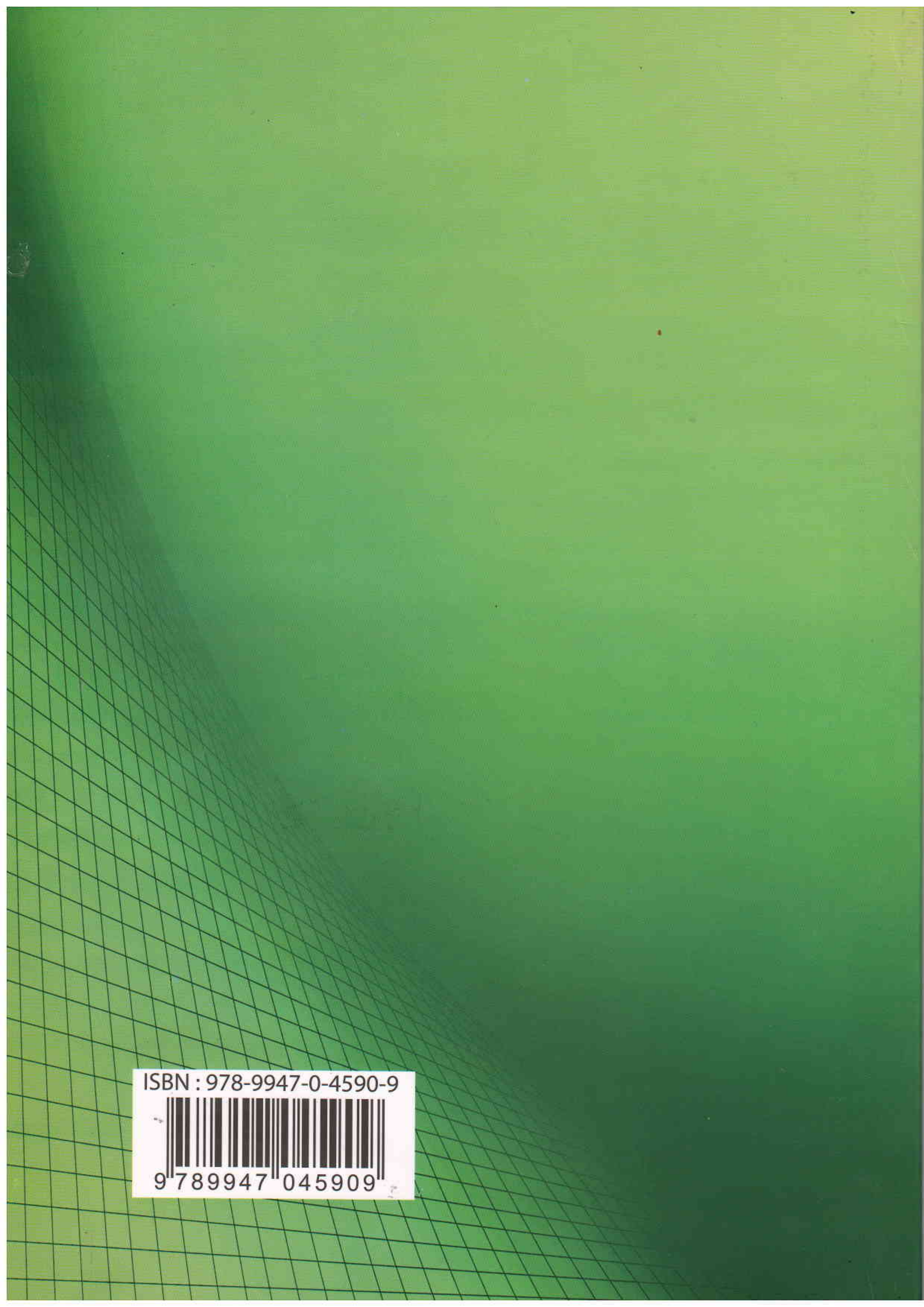
a. une capacité d'autoduplication observée à la fin de la phase S du cycle cellulaire

b. une organisation microtubulaire stabilisée par la cytochalasine

c. une implication dans la formation du fuseau mitotique

d. leur participation à la constitution du COMT

e. une dynamique cyclique de leur microtubules


ISBN : 978-9947-0-4590-9
9 789947 045909